

# APPARATUS AND METHOD FOR AGITATING WITH MAGNETIC PARTICLES

[71] **Applicant:** NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY

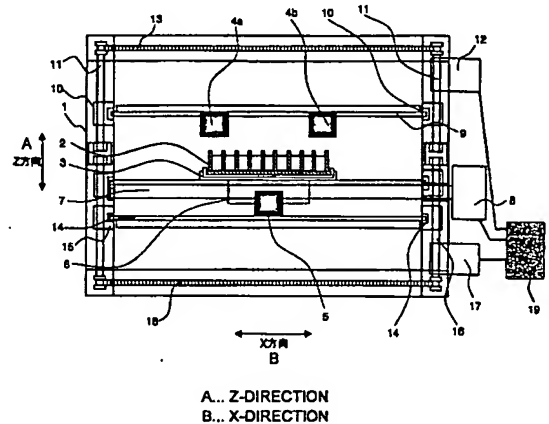
[72] **Inventors:** SHIMOKAWA, Katsuyoshi; TAMURA, Noriko; TAMURA, Tomohiro

[21] **Application No.:** JP03014515

[22] **Filed:** 20031114

[43] **Published:** 20040617

[30] **Priority:** JP 2002-348335 20021129



[Go to Fulltext](#)

[Get PDF](#)

## [57] Abstract:

An agitating apparatus with magnetic particles capable of surely agitating solution by using magnetic particles even if the solution is filled in any container, comprising a frame part for placing the container thereon for filling fluid therein, an upper magnetic field generating part disposed on the upper side of the frame part and applying magnetic field from the upper side to the fluid filled in the container, and a lower magnetic field generating part disposed on the lower side of the frame part and applying a magnetic field from the lower side to the fluid filled in the container, wherein the upper magnetic field generating part and the lower magnetic fields generating part apply the magnetic field to the container placed on the frame part in cycles with different phases.

[51] **Int'l Class:** B01F01308 C12M00102

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2004 年 6 月 17 日 (17.06.2004)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2004/050227 A1

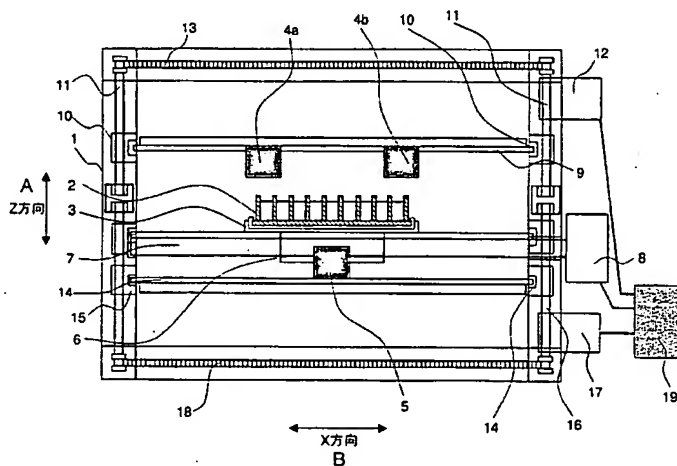
(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: B01F 13/08, C12M 1/02  
(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/014515  
(22) 国際出願日: 2003 年 11 月 14 日 (14.11.2003)  
(25) 国際出願の言語: 日本語  
(26) 国際公開の言語: 日本語  
(30) 優先権データ:  
特願 2002-348335  
2002 年 11 月 29 日 (29.11.2002) JP  
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人産業技術総合研究所 (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒100-8921 東京都千代田区霞が関一丁目 3 番 1 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 下川 勝義 (SHIMOKAWA, Katsuyoshi) [JP/JP]; 〒062-8517 北海道札幌市豊平区月寒東 2 条 17 丁目 2 番 1 号 独立行政法人産業技術総合研究所 北海道センター内 Hokkaido (JP). 田村 範子 (TAMURA, Noriko) [JP/JP]; 〒062-8517 北海道札幌市豊平区月寒東 2 条 17 丁目 2 番 1 号 独立行政法人産業技術総合研究所 北海道センター内 Hokkaido (JP). 田村 具博 (TAMURA, Tomohiro) [JP/JP]; 〒062-8517 北海道札幌市豊平区月寒東 2 条 17 丁目 2 番 1 号 独立行政法人産業技術総合研究所 北海道センター内 Hokkaido (JP).  
(74) 代理人: 平木 祐輔, 外 (HIRAKI, Yusuke et al.); 〒105-0001 東京都港区虎ノ門一丁目 17 番 1 号 虎ノ門 5 森ビル 3 階 Tokyo (JP).

/ 続葉有 /

(54) Title: APPARATUS AND METHOD FOR AGITATING WITH MAGNETIC PARTICLES

(54) 発明の名称: 磁性粒子攪拌装置及び攪拌方法



A... Z-DIRECTION  
B... X-DIRECTION

(57) Abstract: An agitating apparatus with magnetic particles capable of surely agitating solution by using magnetic particles even if the solution is filled in any container, comprising a frame part for placing the container thereon for filling fluid therein, an upper magnetic field generating part disposed on the upper side of the frame part and applying magnetic field from the upper side to the fluid filled in the container, and a lower magnetic field generating part disposed on the lower side of the frame part and applying a magnetic field from the lower side to the fluid filled in the container, wherein the upper magnetic field generating part and the lower magnetic fields generating part apply the magnetic field to the container placed on the frame part in cycles with different phases.

(57) 要約: 如何なる容器に注入された溶液であっても磁性粒子を用いて確実に攪拌する。液体を注入するための容器を載置するための架台部と、上記架台部の上部に配設され、上記容器に注入された液体に対して上方から磁界を印加する上部磁界発生部と、上記架台部の下部に配設され、上記容器に注入された液

/ 続葉有 /



WO 2004/050227 A1



(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

パ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

## 明 細 書

## 磁性粒子攪拌装置及び攪拌方法

## 5 技術分野

本発明は、磁性粒子を用いて容器内に注入された液体を攪拌する磁性粒子攪拌装置に関する。

## 背景技術

- 10 近年、バイオサイエンス分野において磁性ビーズ等の磁性粒子を用いた研究手法が急速に普及しつつある。この磁性ビーズを用いた手法は、磁性体である磁性ビーズの表面を加工し、加工表面に結合する物質を、磁力により迅速に単離・精製する方法である。また、この磁性ビーズ表面の性質や加工手法を変えることで、
- 15 プラスミドDNAの調製を行うこともできる。さらに、磁性ビーズの表面にpoly(T)を固定することで全量RNAからのpoly(A)<sup>+</sup>RNAの回収を行うこともできる。その他、磁性ビーズを用いることによって、抗原、DNAや薬剤など様々な生体活性分子を単離することができる。

- また、磁性ビーズの用途としては、上述したような生体活性分子を表面に固定化することで医療用途及び診断用途、或いは標的細胞の分離用途等様々な用途に
- 20 利用されている。

- この磁性ビーズを用いた実験手法は、試料溶液と磁性ビーズの攪拌に引き続き、磁石を利用して磁性ビーズを回収する方法が一般的である。具体的の特許文献1には、試料液体中に含まれる磁気吸引可能な粒子を容器底部近くに環状又は部分環状ペレットを形成するよう造形された磁石系を用いて分離する方法が開示され
- 25 ている。しかし、この方法では粒子を回収することはできても、試料溶液を攪拌することは容易でない。

そこで、最近では、容器内の試料溶液中にノズルを差し込み、液体や気泡を吐出して粒子の攪拌を行った後、磁石を用いて磁性ビーズを回収する方法が採られ、この方法を自動化した自動核酸抽出装置がロボットとして製品化されている。磁

気ビーズを用いた自動核酸抽出装置においては、例えば、市販の96穴容器(8x12列)を用い、複数の試料を同時に処理することで効率的な核酸抽出処理を実現している。

しかしながら、この自動核酸抽出装置においては、96穴容器の各穴を複数同時に攪拌するための多チャンネル・ノズルを必要とするため、装置構成が複雑化、大型化することになり、その結果、コストも高くなるといった問題がある。さらに、自動核酸抽出装置においては、多チャンネル・ノズルの位置決めや吸排動作を正確に制御する必要もあるため、精密な機械構成及び制御装置のためのコストも高くなるといった問題がある。

さらに、自動核酸抽出装置においては、使用する容器の種類に応じて多チャンネル・ノズルを固定して備え付ける場合が多く、使用態様が限定されてしまうといった問題がある。換言すると、自動核酸抽出装置においては、様々な容器を用いる場合には、その都度、使用する容器に応じて多チャンネル・ノズルを付け替える必要があり、操作が煩雑であるとともにコストも高くなるといった問題がある。

#### 特許文献1

特開平6-198214号公報

#### 20 発明の開示

そこで、本発明は、上述したような実状に鑑み、如何なる容器に注入された溶液であっても磁性粒子を用いて確実に攪拌することができ、簡易且つ低コストな磁性粒子攪拌装置を提供することを目的とする。

上述した目的を達成した本発明は以下を包含する。

(1) 液体を注入するための容器を載置するための架台部と、上記架台部の上部に配設され、上記容器に注入された液体に対して上方から磁界を印加する上部磁界発生部と、上記架台部の下部に配設され、上記容器に注入された液体に対して下方から磁界を印加する下部磁界発生部とを備え、上記上部磁界発生部及び下部磁界発生部は、上記架台部に載置された容器に対して位相の異なる周期で磁界

をそれぞれ印加することを特徴とする磁性粒子攪拌装置。

(2) 上記上部磁界発生部及び上記下部磁界発生部を、上記架台部の面内方向に移動可能とする磁界発生部駆動装置を備えることを特徴とする(1)記載の磁性粒子攪拌装置。

5 (3) 上記架台部を、上記上部磁界発生部と上記下部磁界発生部との間に面内方向に移動可能とする架台部駆動装置を備えることを特徴とする(1)記載の磁性粒子攪拌装置。

(4) 上記上部磁界発生部と上記下部磁界発生部とのうちいずれか一方又は両方を上記架台部に対して接離可能とすることを特徴とする(2)又は(3)記載  
10 の磁性粒子攪拌装置。

(5) 上記上部磁界発生部及び下部磁界発生部は、上記架台部の面内方向に並列させた複数の電磁誘導装置をそれぞれ備え、これら複数の電磁誘導装置を並列方向に周期的にオン・オフ制御することを特徴とする(1)記載の磁性粒子攪拌装置。

15 (6) 上記上部磁界発生部と上記下部磁界発生部から生ずる磁界強度を制御する制御装置を備えることを特徴とする(1)記載の磁性粒子攪拌装置。

(7) 液体及び当該液体内に加えられた磁性粒子とを有する容器に対して、当該容器の上方及び下方から位相の異なる周期で磁界をそれぞれ印加することを特徴とする液体攪拌方法。

20 (8) 上記容器に対して上方から印加する磁界を発生させる上部磁界発生部と、上記容器に対して下方から印加する磁界を発生させる下部磁界発生部との間に上記容器を取り付け、

上記上部磁界発生部及び上記下部磁界発生部の間で上記容器の面内方向に、上記容器又は上記上部磁界発生部及び上記下部磁界発生部を往復運動させることを  
25 特徴とする(7)記載の液体攪拌方法。

(9) 上記容器に対して上方から印加する磁界を発生させる上部磁界発生部と、上記容器に対して下方から印加する磁界を発生させる下部磁界発生部との間に上記容器を取り付け、

上記上部磁界発生部から上記容器の面内方向に強度の異なる磁界を周期的に発

生させるとともに、上記下部磁界発生部から上記容器の面内方向に強度の異なる磁界を周期的に発生させることを特徴とする（７）記載の液体攪拌装置。

本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願2002-348335号の明細書

5 および/または図面に記載される内容を包含する。

#### 図面の簡単な説明

図１は、本発明を適用した磁性粒子攪拌装置の要部正面図である。

図２は、磁性粒子攪拌装置の要部上面図である。

10 図３は、磁性粒子攪拌装置の要部側面図である。

図４は、磁性粒子攪拌装置を用いて液体を攪拌する工程を説明するための模式図である。

図５は、図４に示した段階の続きであり、磁性粒子攪拌装置を用いて液体を攪拌する工程を説明するための模式図である。

15 図６は、図５に示した段階の続きであり、磁性粒子攪拌装置を用いて液体を攪拌する工程を説明するための模式図である。

図７は、図６に示した段階の続きであり、磁性粒子攪拌装置を用いて液体を攪拌する工程を説明するための模式図である。

20 図８は、図７に示した段階の続きであり、磁性粒子攪拌装置を用いて液体を攪拌する工程を説明するための模式図である。

図９は、図８に示した段階の続きであり、磁性粒子攪拌装置を用いて液体を攪拌する工程を説明するための模式図である。

図１０は、本発明を適用した磁性粒子攪拌装置における上部磁界発生部及び下部磁界発生部と容器とを示す模式図である。

25 図１１は、図１０に示した磁性粒子攪拌装置を用いて液体を攪拌する工程を説明するための模式図である。

図１２は、図１１に示した段階の続きであり、図１０に示した磁性粒子攪拌装置を用いて液体を攪拌する工程を説明するための模式図である。

図１３は、図１２に示した段階の続きであり、図１０に示した磁性粒子攪拌装

置を用いて液体を攪拌する工程を説明するための模式図である。

図 1 4 は、図 1 3 に示した段階の続きであり、図 1 0 に示した磁性粒子攪拌装置を用いて液体を攪拌する工程を説明するための模式図である。

図 1 5 は、図 1 4 に示した段階の続きであり、図 1 0 に示した磁性粒子攪拌装置を用いて液体を攪拌する工程を説明するための模式図である。

図 1 6 は、融合タンパク質を、磁性粒子攪拌装置を用いて精製した結果を示す電気泳動写真である。

図 1 7 は、多検体試料から目的とする融合タンパク質を、磁性粒子攪拌装置を用いて精製した結果を示す電気泳動写真である。

10

符号の説明

2・・・容器、3・・・架台部、4 a, 4 b・・・上記磁界発生部、5・・・下部磁界発生部

以下、本発明について詳細に説明する。

15 本発明を適用した磁性粒子攪拌装置は、例えば、図 1 乃至 3 に示すように、筐体 1 と、容器 2 を載置するための筐体 1 内部に配設された架台部 3 と、容器 2 の上方に配設された一对の上部磁界発生部 4 a, 4 b と、容器 2 の下方に配設された下部磁界発生部 5 とを備えている。本例では、容器 2 として、7 行 9 列の 63 穴プレートを用いている。

20 なお、図 1 乃至 3 に示した磁性粒子攪拌装置においては、架台部 3 上に 2 個の容器 2 を取り付けることができる。したがって、磁性粒子攪拌装置は、一对の上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 を、2 個の容器 2 に対応するようにそれぞれ 2 個ずつ備えている。

磁性粒子攪拌装置は、図 1 中「X 方向」と示した矢印の方向（以下、単に「X 方向」と呼ぶ）に架台部 3 を移動させるための架台部駆動装置を備えている。架台部駆動装置は、架台部 3 を固定する可動部材 6 と、軸状部材に所定のピッチでねじ切り加工が施されており可動部材 6 に螺合された可動用軸 7 と、可動用軸 7 に回転力を与える可動用モータ 8 とから構成されている。

上部磁界発生部 4 a, 4 b は、所定の磁力を生ずる強磁性体から構成され、所



定距離をおいてX方向に並列して配設されている。下部磁界発生部 5 は、所定の磁力を生ずる強磁性体から構成され、上部磁界発生部 4 a, 4 b の中間部に対向する位置に配設されている。

7行9列の63穴プレート容器 2 として用いた場合、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 の容器 2 に対する対向面は、それぞれ7行1.5~2列に相当する形状とする。

磁性粒子攪拌装置は、図 1 中「Z方向」と示した矢印の方向に上部磁界発生部 4 a, 4 b を移動させるための上部位置決め装置を備えている。上部位置決め装置は、上部磁界発生部 4 a, 4 b を配設した上部スライドレール 9 と、上部スライドレール 9 の両端部に配設され上部スライドレール 9 を支持する一対の上部高さ調節移動部材 10 と、一対の上部高さ調節移動部材 10 にそれぞれ螺合された一対の上部高さ調節可動軸 11 と、一方の上部高さ調節可動軸 11 に回転力を与える上部高さ調節用モータ 12 と、一方の上部高さ調節可動軸 11 に与えられた回転力を他方の上部高さ調節可動軸 11 に伝達する上部ベルト 13 とを備える。

磁性粒子攪拌装置は、図 1 中「Z方向」と示した矢印の方向に下部磁界発生部 5 を移動させるための下部位置決め装置を備えている。下部位置決め装置は、下部磁界発生部 5 を配設した下部スライドレール 14 と、下部スライドレール 14 の両端部に配設され下部スライドレール 14 を支持する一対の下部高さ調節移動部材 15 と、一対の下部高さ調節移動部材 15 にそれぞれ螺合された一対の下部高さ調節可動軸 16 と、一方の下部高さ調節可動軸 15 に回転力を与える下部高さ調節用モータ 17 と、一方の下部高さ調節可動軸 15 に与えられた回転力を他方の下部高さ調節可動軸 15 に伝達する下部ベルト 18 とを備える。

磁性粒子攪拌装置は、架台部駆動装置の可動用モータ 8 と、上部位置決め装置の上部高さ調節用モータ 12 と、下部位置決め装置の下部高さ調節用モータ 17 を駆動制御する制御装置 19 を備えている。

なお、磁性粒子攪拌装置は、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 を除く各部材を、非磁性材料を用いて作製することが好ましい。上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 を除く各部材を非磁性材料とすることによって、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 によって作り出される磁界のバ

ランスを維持することができる。

一方、容器 2 は、液体を注入するために区画されたものであれば特に限定されず、如何なる容器 2 であっても磁性粒子攪拌装置に用いることができる。すなわち、本例では容器 2 として 7 行 9 列の 63 穴プレート为例示したが、磁性粒子攪拌装置に用いる容器 2 としてはこれに限定されない。磁性粒子攪拌装置には、例えば、8 行 12 列の 96 穴プレート、1 の区画のみからなる試験管やチューブ等を用いることもできる。

また、容器 2 は、各穴（63 穴）に液体を注入する前或いは液体を注入した後、攪拌対象の液体が注入された穴内に磁性粒子を加える。磁性粒子とは、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 から生じた磁力によって液体内を移動可能なものであれば、如何なる材料、形状、粒径を有するものであっても良い。

特に、磁性粒子としては、攪拌対象の液体の粘度等に応じて適宜選択されることが好ましい。例えば、磁性粒子の平均粒径は、攪拌対象の液体の粘度に応じて、10～300  $\mu\text{m}$  の範囲から選ばれることが好ましく、20～150  $\mu\text{m}$  の範囲から選ばれることがより好ましい。

磁性粒子は、表面処理が施されたものであっても良い。表面処理としては、例えば、特定の生体関連物質との親和性が高い基質を固定する処理、表面の物理的状态（電荷、表面性、形状等を含む）を改変する処理、識別可能な色素や蛍光物質を含めた物質のコーティング処理等を挙げることができる。

例えば、磁性粒子に対して特定の生体関連物質に対する親和性が高い基質を固定する表面処理を施すことによって、特定の生体関連物質を特異的に吸着することができたり、また、特定の生体関連物質の吸着効率を増大させることができたりする。また、磁性粒子に対して表面の物理的状态（電荷、表面性、形状等を含む）を改変する表面処理を施すことによって、生体関連物質の吸着効率を増大させることができる。

以上のように構成された磁性粒子攪拌装置は、以下のようにして、容器 2 の各穴（63 穴）に注入された液体を攪拌することができる。まず、容器 2 の 63 穴に対して攪拌対象の液体を注入するとともに、所定量の磁性粒子を加える。磁性粒子の量としては、特に限定されないが、注入した液体の容積に対して 0.5～5% の範

囲で加えることが好ましい。なお、容器 2 は蓋やシートで覆ってもよい。容器 2 を蓋やシートで覆うことによって、容器 2 に注入された液体の流出を防止する或いは隣接する穴の間における液体の混和を防止することができる。

次に、容器 2 を磁性粒子攪拌装置の架台部 3 に載置する。このとき、容器 2 は、  
5 架台部 3 に対して固定して取り付けることが望ましい。容器 2 を架台部 3 に対して固定することによって、架台部 3 の移動に際して容器 2 の位置ずれを防止することができる。

次に、上部位置決め装置及び下部位置決め装置を駆動して、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 の位置決めを行う。これら上部磁界発生部 4 a, 10 4 b 及び下部磁界発生部 5 の Z 方向における位置は、攪拌対象の溶液に印加する磁界強度（磁束密度）に応じて設定する。

具体的には、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 の Z 方向の位置を設定すると、制御手段 1 9 が上部位置決め装置及び下部位置決め装置を駆動制御する。上部位置決め装置及び下部位置決め装置では、先ず、上部高さ調節用モータ 1 2 及び下部高さ調節用モータ 1 7 の回動力がそれぞれ一方の上部高さ調節可動軸 1 1 及び一方の下部高さ調節可動軸 1 6 に伝達される。一方の上部高さ調節可動軸 1 1 及び一方の下部高さ調節可動軸 1 6 が回転すると、その回動力がベルト 1 3 及びベルト 1 8 を介して他方の上部高さ調節可動軸 1 1 及び他方の下部高さ調節可動軸 1 6 が回転する。

20 このように、上部高さ調節用モータ 1 2 及び下部高さ調節用モータ 1 7 により一对の上部高さ調節可動軸 1 1 及び一对の下部高さ調節可動軸 1 6 に回動力が伝達されると、その回動力によって一对の上部高さ調節移動部材 1 0 及び一对の下部高さ調節移動部材 1 4 が Z 方向に移動する。一对の上部高さ調節移動部材 1 0 及び一对の下部高さ調節移動部材 1 4 が Z 方向に移動することによって、上部ス  
25 ライドレール 9 に固定された上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部スライドレール 1 4 に固定された下部磁界発生部 5 が所定の位置に移動する。

以上の動作により、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 の位置決めを行うことができる。これにより、攪拌対象の溶液に対して、これら上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 から所望の磁界を印加することができる。

また、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 の位置決めは、攪拌対象の溶液の粘度、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 の磁界強度（磁束密度）、磁性粒子の形状等の物性に応じて適宜設定することができる。なお、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 の位置決めは、容器 2 の取り付けに先立って行っても良い。

次に、架台部 3 を駆動して容器 2 内に注入された液体を攪拌する。具体的には、制御手段 1 9 が架台駆動装置を制御することによって、架台部 3 を X 方向に往復運動させることによって、容器 2 内に注入された液体を攪拌することができる。架台部 3 を X 方向に往復運動させるには、先ず、制御装置 1 9 に駆動制御により可動用モータ 8 を所定の方法に回転させる。可動用モータ 8 の回転力は可動用軸 7 に伝達される。可動用軸 7 が回転すると、可動用軸 7 の回転量に応じて可動部材 6 が X 方向のうちいずれか一方の方向に所定の距離だけ移動する。容器 2 は、可動部材 6 の移動に伴って架台部 3 とともに、X 方向のうちいずれか一方の方向に所定の距離だけ移動することとなる。

容器 2 を所定の距離だけ移動させた後、制御装置 1 9 に駆動制御により可動用モータ 8 を反対の方向に回転させる。これにより、容器 2 は、同様にして、逆方向に所定の距離だけ移動することとなる。

以上の動作を繰り返し行うことによって、架台部 3 に固定された容器 2 を X 方向に往復運動させることができる。容器 2 は、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発生部 5 により所定の磁界が印加された状態で往復運動するため、注入された液体内で磁性粒子が回転運動する。この磁性粒子の回転運動によって、容器 2 に注入された液体が攪拌されることとなる。容器 2 を X 方向に往復運動させる際の速度は特に限定されないが、好ましくは 1.0～3.0cm/秒、より好ましくは 1.3～1.5cm/秒の速度で行う。容器 2 を X 方向に往復運動させる際の速度は、制御装置 1 9 が可動用モータ 8 を駆動制御することで調節できる。

磁性粒子による液体の攪拌作用を、図 4 乃至 9 に模式的に示す。なお図 4 乃至 9 は、容器 2 が X 方向に移動したときの一つの穴 2 0 と、上部磁界発生部 4 a 及び下部磁界発生部 5 との位置関係を示している。先ず、図 4 に示すように、穴 2 0 と上部磁界発生部 4 a, 4 b と下部磁界発生部 5 とが十分に離間した位置関係

からスタートしたとする。図4に示す状態において、穴20内の磁性粒子は、自重によって穴20の底面に沈んでいる。

次に、図5に示すように、架台部3を可動用軸7に沿って駆動すると、穴20は一方の上部磁界発生部4aに近接する方向に移動することとなる。これにより、  
5 穴20の底面に沈降していた磁性粒子には、一方の上部磁界発生部4aから生じた磁界によって磁気吸引力が作用する。その結果、磁性粒子は、穴20内に注入された液体内で磁気浮上し始める。

次に、図6に示すように、架台部3を可動用軸7に沿って駆動すると、穴20は一方の上部磁界発生部4aの直下に移動することとなる。この状態では、一方  
10 の上部磁界発生部4aから生じた磁界が穴20に対して最も強く作用することになる。このとき、磁性粒子は、穴20に注入された液体の表面近傍に溜まることになるが、液体の表面張力によって外部へ放出されることはない。

次に、図7に示すように、架台部3を可動用軸7に沿って駆動すると、穴20は一方の上部磁界発生部4aに離間する方向に移動することとなる。これにより、  
15 液体の表面近傍に溜まった磁性粒子に対しては、一方の上部磁界発生部4aから生じた磁界による磁気吸引力の影響が減少することとなる。その結果、磁性粒子は、自重によって液体内で徐々に沈降を始める。

次に、図8に示すように、架台部3を可動用軸7に沿って駆動すると、穴20は下部磁界発生部5に近接する方向に移動することとなる。徐々に沈降を始めた  
20 磁性粒子には、下部磁界発生部5から生ずる磁界による磁気吸引力が作用する。その結果、磁性粒子の自重による沈降速度が加速するとともに、磁性粒子の沈降方向が下部磁界発生部5方向に変化する。

次に、図9に示すように、架台部3を可動用軸7に沿って駆動すると、穴20は下部磁界発生部5の直上に移動することとなる。この状態では、下部磁界発生  
25 部5から生じた磁界が穴20に対して最も強く作用することになる。その結果、磁性粒子は、穴20の底面方向に急激に引き寄せられる。また、架台部3の移動に伴って穴20底面も移動するため、穴20底面の端部から徐々に下部磁界発生部5に近接することとなり、移動に伴って穴20底面の端部から徐々に磁気吸引力が増大してくることになる。その結果、穴20底面には、その端部から磁性粒

子が沈降することになり、図 9 に示すように最終的には磁性粒子が均一に沈降する。

以上、図 4 乃至 9 に示したように、架台部 3 を可動用軸 7 に沿って駆動することによって、穴 20 内の磁性粒子が液体内を回転し、液体を攪拌することができる。なお、図 9 に示した状態の後、図示しないが、架台部 3 を可動用軸 7 に沿って駆動することで、穴 20 が下部磁界発生部 5 から離間し、他方の上部磁界発生部 4 b に近接する。このときも、同様にして磁性粒子が穴 20 内を回転し、液体を攪拌することができる。さらに、図示しないが、架台部 3 が可動用軸 7 に沿って往復運動することによって、穴 20 が上部磁界発生部 4 a, 4 b と下部磁界発生部 5 とから生ずる位相の異なる周期で磁界を複数回にわたって印加する。これにより、穴 20 内に注入された液体は、磁性粒子の回転によって十分に攪拌されることとなる。

以上説明したように、磁性粒子攪拌装置によれば、上部磁界発生部 4 a, 4 b と下部磁界発生部 5 とから生ずる位相の異なる周期で磁界を架台部 3 に載置された容器 2 に対して印加することによって、容器 2 に注入された液体を確実に攪拌することができる。特に、磁性粒子攪拌装置においては、架台部 3 とともに容器 2 を往復運動させながら、上部磁界発生部 4 a, 4 b と下部磁界発生部 5 とから生ずる位相の異なる周期で磁界を容器 2 に印加している。これにより、磁性粒子攪拌装置は、容器 2 に注入された液体を確実に攪拌することができる。

このように、磁性粒子攪拌装置は、攪拌用ノズル及び攪拌用ノズルに連結した吸引排気装置といった装置構成を有さなくてもよく、簡易な装置構成で液体を攪拌することができる。また、磁性粒子攪拌装置は、上述したように、上部磁界発生部 4 a, 4 b と下部磁界発生部 5 とから生ずる位相の異なる周期で磁界を容器 2 に印加すれば液体を攪拌できるため、容器 2 の形状、種類等を制限することなく、幅広い種類の容器 2 を用いることができる。言い換えれば、攪拌対象の液体は、如何なる形状、種類の容器 2 に注入されていても、磁性粒子攪拌装置を用いれば攪拌することができる。

また、磁性粒子攪拌装置では、容器 2 の区画に注入された液体の粘度や、区画の容積、磁性粒子の形状等に応じて、上部磁界発生部 4 a, 4 b 及び下部磁界発

生部 5 の位置を調節することができる。磁性粒子攪拌装置においては、上部磁界発生部 4 a , 4 b 及び下部磁界発生部 5 を所望の位置に調節することで、容器 2 に対して印加する磁界強度を制御することができる。磁性粒子攪拌装置においては、容器 2 に注入された液体の粘度や、容器 2 の容積、磁性粒子の形状等に応じた磁界を印加することで、如何なる種類の容器を用いて、如何なる種類の液体をも確実に攪拌することができる。

上述した磁性粒子攪拌装置では、可動部材 6 が X 方向に往復運動することによって、固定された上部磁界発生部 4 a , 4 b 及び下部磁界発生部 5 の間を容器 2 がその面内方向に往復運動していた。本発明を適用した磁性粒子攪拌装置としては、架台部 3 に取り付けられた容器 2 を固定し、上部磁界発生部 4 a , 4 b 及び下部磁界発生部 5 を往復運動させるような構成であっても良い。この場合でも、上部磁界発生部 4 a , 4 b 及び下部磁界発生部 5 は、図 4 乃至 9 に示したように、容器 2 に対して位相の異なる周期で磁界をそれぞれ印加することができる。この場合でも、磁性粒子攪拌装置は、容器 2 に注入された液体を十分に攪拌することができる。

ところで、本発明に係る磁性粒子攪拌装置は、上述したような上部磁界発生部 4 a , 4 b 及び下部磁界発生部 5 を備え、架台部 3 に取り付けられた容器 2 を架台部 3 と共に往復運動させるようなものに限定されない。本発明を適用した磁性粒子攪拌装置は、例えば、図 10 に示すように、複数の電磁コイル部 30 乃至 35 を有する上部磁界発生部 36 及び複数の電磁コイル部 37 乃至 42 を有する下部磁界発生部 43 とを備え、架台部 3 に取り付けられた容器 2 を往復運動させることなく、容器 2 に対して位相の異なる周期で磁界を印加しても良い。

具体的には、図 10 に示す磁性粒子攪拌装置において、上部磁界発生部 36 は、複数の穴を有する容器 2 に対して対向して配設された複数の電磁コイル部 30 乃至 35 を有し、下部磁界発生部 43 は、当該容器 2 に対して対向して配設された複数の電磁コイル部 37 乃至 42 を有している。また、これら複数の電磁コイル部 30 乃至 35 と電磁コイル部 37 乃至 42 は、制御装置 44 に接続されている。

このように構成された磁性粒子攪拌装置においては、制御装置 44 によって、複数の電磁コイル部 30 乃至 35 と電磁コイル部 37 乃至 42 から生じる磁界を

制御し、容器 2 に印加する磁界強度を制御することができる。磁性粒子攪拌装置においては、例えば図 1 1 乃至 1 5 に示すように、複数の電磁コイル部 3 0 乃至 3 5 と電磁コイル部 3 7 乃至 4 2 を制御装置 4 4 が制御することによって、穴 4 5 に注入された液体を攪拌することができる。なお、図 1 1 乃至 1 5 は、電磁コイル 3 2 の直下であって電磁コイル 3 9 の直上に位置する一つの穴 4 5 に対して上部磁界発生部 3 6 及び下部磁界発生部 4 3 を用いて位相の異なる周期で磁界を印加した時の磁性粒子の動きを示している。

5 10 先ず、図 1 1 に示す状態では、上部磁界発生部 3 6 において電磁コイル 3 2 が磁界を発生しない或いは最も弱い磁界を発生するとともに、下部磁界発生部 4 3 において電磁コイル 3 9 が最も強い磁界を発生する。この図 1 1 に示した状態では、電磁コイル 3 9 から生じた磁界による磁気吸引力により磁性粒子は穴 4 5 の底面に存在する。

15 次に、図 1 2 に示す状態に移行する。図 1 2 に示した状態では、上部磁界発生部 3 6 において電磁コイル 3 3 が最も強い磁界を発生し電磁コイル 3 2 が比較的強い磁界を発生するとともに、下部磁界発生部 4 3 において電磁コイル 3 9 から生ずる磁界が弱まっている。この図 1 2 に示した状態では、電磁コイル 3 2 及び 3 3 から生ずる磁界による磁気吸引力により、磁性粒子は穴 4 5 内で磁気浮上し始める。

20 次に、図 1 3 に示す状態に移行する。図 1 3 に示した状態では、上部磁界発生部 3 6 において電磁コイル 3 2 が最も強い磁界を発生するとともに、下部磁界発生部 4 3 において電磁コイル 3 9 が磁界を発生しない或いは最も弱い磁界を発生する。この図 1 3 に示した状態では、電磁コイル 3 2 から生ずる磁界による磁気吸引力により、磁性粒子は穴 4 5 に注入された液体の表面近傍に溜まることになる。

25 次に、図 1 4 に示す状態に移行する。図 1 4 に示した状態では、上部磁界発生部 3 6 において発生する磁界と、下部磁界発生部 4 3 において発生する磁界とがほぼ釣り合うこととなる。この図 1 4 に示した状態では、上部磁界発生部 3 6 及び下部磁界発生部 4 3 から生ずる磁界が互いに相殺され磁気吸引力が生じ得ず、磁性粒子は自重により穴 4 5 の底面方向に沈降を始める。



次に、図 1 5 に示す状態に移行する。図 1 5 に示した状態では、上部磁界発生部 3 6 において電磁コイル 3 2 から生ずる磁界が弱まるとともに、下部磁界発生部 4 3 において電磁コイル 4 0 が最も強い磁界を発生し電磁コイル 3 9 が比較的強い磁界を発生する。この図 1 5 に示した状態では、電磁コイル 3 9 及び 4 0 から生ずる磁界による磁気吸引力が、徐々に沈降を始めた磁性粒子に作用する。その結果、磁性粒子の自重による沈降速度が加速するとともに、磁性粒子の沈降方向が直下方向から電磁コイル 4 0 の方向へと徐々に変化する。

次に、図 1 1 に示す状態に移行する。図 1 5 に示した状態から図 1 1 に示した状態への移行に伴って、穴 4 5 底面の電磁コイル 4 0 側の端部から徐々に磁気吸引力が増大し、図 1 1 に示した状態において完全に均一な磁気吸引力が穴 4 5 の底面全体に作用する。その結果、穴 4 5 底面には、電磁コイル 4 0 側の端部から磁性粒子が沈降することになり、図 1 1 に示すように最終的には磁性粒子が均一に沈降する。

このように、図 1 1 乃至図 1 5 に示した状態を繰り返し作り出すことによって、穴 4 5 内の磁性粒子は、穴 4 5 に注入された液体内を繰り返し回転することができ、これにより、磁性粒子攪拌装置は、穴 4 5 内に注入された液体を確実に攪拌できる。

以上のように、図 1 0 に示した磁性粒子攪拌装置では、架台部 3 とともに容器 2 を往復運動させることなく、容器 2 に対して位相の異なる周期で磁界を印加することができ、液体を攪拌することができる。この場合も磁性粒子攪拌装置は、攪拌用ノズル及び攪拌用ノズルに連結した吸引排気装置といった装置構成を有さなくてもよく、簡易な装置構成で液体を攪拌することができる。また、磁性粒子攪拌装置は、上述したように、上部磁界発生部 3 6 と下部磁界発生部 4 3 とから生ずる磁界を、位相の異なる周期で容器 2 に印加すれば液体を攪拌できるため、容器 2 の形状、種類等を制限することなく、幅広い種類の容器 2 を用いることができる。言い換えれば、この場合も、攪拌対象の液体は、如何なる形状、種類の溶液 2 に注入されていても、磁性粒子攪拌装置を用いれば攪拌することができる。

また、図 1 0 に示した磁性粒子攪拌装置においては、上部磁界発生部 3 6 及び下部磁界発生部 4 3 の Z 方向の位置を調節する機構を有していても良いが、電磁

コイル部 30 乃至 35 と電磁コイル部 36 乃至 42 に供給する電圧を制御することによって磁界強度を制御できるため、当該機構を有していなくても良い。いずれの場合であっても、注入された液体の粘度や、容器 2 の容積、磁性粒子の形状等に応じて、容器 2 に対して印加する磁界強度を制御することができる。磁性粒子

5 子攪拌装置においては、容器 2 に注入された液体の粘度や、容器 2 の容積、磁性粒子の形状等に応じた磁界を印加することで、如何なる種類の容器を用いて、如何なる種類の液体をも確実に攪拌することができる。

一方、本発明に係る磁性粒子攪拌装置は、単に液体の攪拌目的に使用しても良いが、攪拌だけでなくその他の目的に使用しても良い。例えば、磁性粒子攪拌装置は、容器 2 に注入された液体中に含まれる生体関連物質を磁性粒子に吸着させて分離する目的で使用されても良い。ここで、生体関連物質としては、DNA 及び RNA 等の核酸成分、タンパク質成分等を挙げることができる。また、磁性粒子攪拌装置は、タンパク質を含む触媒機能を持つ物質を磁性粒子表面に吸着させたものを溶液内で反応させるバイオリアクターの目的で使用しても良い。

10 また、磁性粒子攪拌装置は、例えば、所定の溶液を容器 2 に分注する機能を有する分注装置、注入された液体の温度制御を行うための温度制御装置、容器 2 の架台部 3 への取り付けや容器 2 の移動を行うアーム装置等いかなる装置を備えていてもよい。

#### <実施例>

20 以下、実施例を用いて本発明をより詳細に説明するが、本発明の技術的範囲はこれら実施例に限定されるものではない。

#### 〔実施例 1〕

本例は、大腸菌内で発現誘導された N 末側あるいは C 末側に 6×ヒスチジンタグを持つ組換えタンパク質を、ニッケルをキレートした磁性化アガロースビーズ

25 を用いて精製する例である。

#### (培養条件)

古細菌サーモプラズマ・アシドフィラム由来の N 末側に 6×ヒスチジンタグを融合したトリコーンプロテアーゼインターラクティングファクター 1 (以下 F1 と表記) タンパク質 (T. Tamura et al., FEBS Lett. 398, 101-105 (1996))、C

末側に6×ヒスチジンタグを融合したトリコーンプロテアーゼインターラクティングファクター2、3（以下それぞれF2、F3と表記）タンパク質（N. Tamura et al., Cell 95, 637-648 (1998)）、およびトリコーンプロテアーゼ（以下TRIと表記）タンパク質（T. Tamura et al., Science 274, 1385-1389 (1996)）をコードする遺伝子を組込んだ4種の発現ベクターをそれぞれ大腸菌BL21-CodonPuls(DE3)-RIL(以後単にBL21(DE3)RILと表記、STRATAGENE社製)に形質転換した。形質転換体を4mlのアンピシリン（100 $\mu$ g/ml）およびクロラムフェニコール（34 $\mu$ g/ml）含有LB培地（1% Difco Bacto Tryptone、0.5% Difco Yeast Extract、1% 塩化ナトリウム）に移植し、37℃にて約10時間振とう培養した後、培養液400 $\mu$ lをLB培地4mlに加え、37℃で引き続き旋回培養をした。タンパク質発現は、IPTG（終濃度0.5mM）を培養液に添加することで誘導し、誘導は終夜行った。タンパク質発現誘導後、菌体は1500xg、20分間の遠心操作により集菌し、以下に示す未変成条件下でのタンパク質精製に供した。

（未変性条件下での大腸菌の破碎）

上記方法により回収した菌体は、培養液を充分取り除いた後、-20℃にて30分から終夜凍結し、細胞破碎直前に氷上で解凍し、組成の異なる3種の細胞破碎バッファー（バッファーA：100mM NaCl含有50mM トリス塩酸緩衝液（pH8.0）、10% BugBuster（Novagen社製）、細胞破碎バッファーB：100mM NaCl含有50mM トリス塩酸緩衝液（pH8.0）、1% tritonX-100、細胞破碎バッファーC：100mM NaCl含有50mM トリス塩酸緩衝液（pH8.0）、1% n-ドデシル-b-D-マルトシド（DDM、n-Dodecyl-b-D-maltoside））400 $\mu$ lに再懸濁した。なお、菌体は、液体窒素を用いて凍結融解を2～3回繰り返した後に細胞破碎バッファーに懸濁してもよい。細胞破碎バッファーに含まれるBugBusterおよび界面活性剤は誘導タンパク質のニッケルをキレーティングした磁性アガロースビーズ（以後単に磁性ビーズと表記、東洋紡績社製）への結合に何ら影響を与えないことを確認している。

菌体懸濁後、核酸類を分解するため1/1000容量のbenzonase(25U/ $\mu$ l、Novagen社製)を添加した。更にBugBusterを添加したバッファーAの条件では、Novagen社が推奨する条件、すなわち、終濃度1mg/mlの卵白由来リゾチーム（以後単にリゾチームと表記、シグマ社製）を別途加えた。懸濁液は1穴あたりに培

養液2ml分の細胞が含まれるように調製し、200  $\mu$  lずつ96穴のプレート（Nunc 社製）に分注した。

組換えタンパク質の精製効率は、細胞の破碎程度に依存するので、磁性ビーズによる精製開始前に細胞の破碎を確実にする必要がある。細胞破碎度は、菌体懸濁液の透明度で判断できるが、細胞破碎を確実にするため上記方法に加え、試料  
5 を含んだプレートにカバーシールを貼り付け、超音波洗浄器（Branson B2200）水浴上にプレートを浮かせ、10分程度処理することによって細胞の破碎を促進させてもよい。細胞破碎後、菌体残さを除去せずにあらかじめ細胞破碎バッファーで平衡化し、25%懸濁液とした磁性ビーズを1穴あたり20  $\mu$  lずつ直接加えた。こ  
10 の磁性ビーズを加えたプレートを容器2として、図1乃至3に示した磁性粒子攪拌装置に装着し、磁性ビーズによって細胞破碎液を攪拌した。

（6xヒスチジンタグ融合タンパク質の磁性ビーズへの結合と溶出）

本例においては、磁性粒子攪拌装置を用いることで磁性ビーズによって細胞破碎液を攪拌することができ、誘導タンパク質を磁性ビーズに結合させることができる。具体的には、プレートを磁性粒子攪拌装置に装着後、上部磁界発生部4 a、  
15 4 b 及び下部磁界発生部5 に対してプレートを1.0～3.0cm/秒、好ましくは1.3～1.5cm/秒の速度で左右交互に往復移動させ、磁性ビーズを細胞破碎液中で回転させ攪拌した。攪拌を室温で20分間行った後、磁性粒子攪拌装置よりプレートを  
20 脱着し、別途用意した永久磁石をプレートの下に置き、磁性ビーズを穴の底部に集めるとともに吸着し、上清を8チャンネルのピペッターを用いて除去した。

上清除去後、プレートの各穴に対して100mM NaCl含有50 mMトリス塩酸緩衝液（pH8.0）を200  $\mu$  l加え、ピペッティングあるいは磁性粒子攪拌装置を用いて磁性ビーズを洗浄した。磁性粒子攪拌装置を用いて磁性ビーズを洗浄する場合には、  
25 磁性ビーズを上記緩衝液中で数回回転させるだけでよい。洗浄後、プレートを脱着し、永久磁石をプレートの下に置き、磁性ビーズを穴の底部に集めるとともに吸着し、上清を8チャンネルのピペッターを用いて除去した。この洗浄操作を3回繰り返して、磁性ビーズを十分に洗浄した。

その後、プレートの各穴に対して50mM トリス塩酸緩衝液（pH7.0）に100mM EDTAを加えた溶液20  $\mu$  lを添加し、磁性ビーズに結合した融合タンパク質を溶出

させた。プレートをプレート用シェーカーで5分間攪拌した後、永久磁石をプレートの下に置き、磁性ビーズを穴の底部に集めるとともに吸着した状態で溶出液10  $\mu$ lをサンプリングしてSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動に供した。

12. 5% SDS-PAGEにより精製タンパク質を分離後、クマーシーブリリアントブルーG250で染色を行った。染色後のゲルを撮像した写真を図16に示す。なお、図16中、「F1」としたゲルは、F1タンパク質をコードする遺伝子を組み込んだ発現ベクターを形質転換した大腸菌BL21(DE3)RILを使用したときの結果を示している。図16中、「F2」「F3」及び「TRI」としたゲルについても同様に、それぞれF2タンパク質、F3タンパク質及びTRIタンパク質をコードする遺伝子を組み込んだ発現ベクターを形質転換した大腸菌BL21(DE3)RILを使用したときの結果を示している。また、各ゲルにおいて、「Mr」としたレーンは分子量マーカーであり、レーン1は細胞破碎バッファーAにより細胞破碎したときの結果であり、レーン2は細胞破碎バッファーBにより細胞破碎したときの結果であり、レーン3は細胞破碎バッファーCにより細胞破碎したときの結果である。

図16から判るように、電気泳動の結果、いずれの細胞破碎バッファーを用いた場合でも、各6xヒスチジン融合タンパク質は、アミノ酸配列から予想される分子量（F1タンパク質34.3 kDa、F2タンパク質及びF3タンパク質89 kDa、TRIタンパク質120 kDa）付近にバンドとして検出された。磁性粒子攪拌装置を用いることによって、異なる細胞破碎バッファーを使用した場合でも、磁性ビーズで精製操作が可能で、分子量の異なるタンパク質を複数同時に精製できることが確認された。

#### 〔実施例2〕

本例は、図1乃至3に示した磁性粒子攪拌装置を用いて、多検体試料を同時に迅速かつ均一に処理して、多検体試料から目的とするタンパク質を精製可能かどうか検討した。

本例では、先ず、実施例1で調製したF2タンパク質をコードする遺伝子で形質転換した大腸菌BL21(DE3)RILを、10mlのアンピシリン（100  $\mu$ g/ml）およびクロラムフェニコール（34  $\mu$ g/ml）含有LB培地で10時間旋回培養した。その後、培養液全量を100mlのLB培地に加え、IPTG（終濃度0.5mM）を添加して終夜タンパク質

の発現を誘導した。その後、1500 x g、20分間の遠心操作により集菌し、-20℃にて凍結保存した。凍結した菌体は氷上で解凍するか、解凍後、液体窒素を用いて凍結融解を数回繰り返した後、100mM NaCl含有50 mMトリス塩酸緩衝液に終濃度10%のBugBasterを加えた溶液を用いて未変性条件下にて再懸濁した。次に、

5 1/1000容量のBenzonaseと終濃度1 mg/mlのリゾチームとを懸濁液に加え、懸濁液中の細胞を破碎し、細胞破碎液を調製した。

そして、得られた細胞破碎液を、1穴あたり培養液2 ml分の細胞が入るように調製し、200  $\mu$  lずつ96穴のプレートのうち4列(1列8穴)に分注した。そこへ、100mM NaCl含有トリス塩酸緩衝液であらかじめ平衡化し、25%懸濁液とした磁性  
10 ビーズを20  $\mu$  lずつ添加した。この磁性ビーズを加えたプレートを容器2として、図1乃至3に示した磁性粒子攪拌装置に装着し、磁性ビーズによって細胞破碎液を攪拌した。

次に、プレートを磁性粒子攪拌装置に装着後、上部磁界発生部4 a, 4 b及び下部磁界発生部5に対してプレートを1.0~3.0cm/秒、好ましくは1.3~1.5cm/秒の速度で左右交互に往復移動させ、磁性ビーズを細胞破碎液中で回転させ攪拌  
15 した。攪拌を室温で20分間行った後、磁性粒子攪拌装置よりプレートを脱着し、別途用意した永久磁石をプレートの下に置き、磁性ビーズを穴の底部に集めるとともに吸着し、上清を8チャンネルのピペッターを用いて除去した。

その後、磁性ビーズの洗浄及び融合タンパク質の溶出は実施例1と同様に行った。実施例1と同様に、サンプリングした溶出液10  $\mu$  lを用いてSDSポリアクリル  
20 アミドゲル電気泳動に供した。12.5% SDS-PAGEにより精製タンパク質を分離後、クマーシーブリリアントブルーG250で染色を行った。染色後のゲルを撮像した写真を図17に示す。なお、図17においては、使用したプレートにおける1列目及び2列目(各列8穴)からサンプリングした結果を示している。

25 図17に示すように、サンプリングした溶出液のすべてにおいて、89 kDaのところにバンド(F2タンパク質に相当)が確認され、各穴から精製されたF2タンパク質のバンドの濃さは均一であった。このことから、磁性粒子攪拌装置を用いることで、多検体試料を同時かつ均一に処理できることが判明した。

本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として

本明細書にとり入れるものとする。

#### 産業上の利用の可能性

- 以上詳細に説明したように、本発明に係る磁性粒子攪拌装置は、如何なる容器
- 5 に注入された液体であつても磁性粒子を用いて確実に攪拌することができる。また、磁性粒子攪拌装置は、磁性粒子を用いた液体の攪拌に要する装置構成を簡易且つ低コストなものとすることができる。

## 請求の範囲

1. 液体を注入するための容器を載置するための架台部と、  
上記架台部の上部に配設され、上記容器に注入された液体に対して上方から磁  
5 界を印加する上部磁界発生部と、  
上記架台部の下部に配設され、上記容器に注入された液体に対して下方から磁  
界を印加する下部磁界発生部とを備え、  
上記上部磁界発生部及び下部磁界発生部は、上記架台部に載置された容器に対  
して位相の異なる周期で磁界をそれぞれ印加することを特徴とする磁性粒子攪拌  
10 装置。
2. 上記上部磁界発生部及び上記下部磁界発生部を、上記架台部の面内方向  
に移動可能とする磁界発生部駆動装置を備えることを特徴とする請求項1記載の  
磁性粒子攪拌装置。
3. 上記架台部を、上記上部磁界発生部と上記下部磁界発生部との間に面内  
15 方向に移動可能とする架台部駆動装置を備えることを特徴とする請求項1記載の  
磁性粒子攪拌装置。
4. 上記上部磁界発生部と上記下部磁界発生部のうちいずれか一方又は両  
方を上記架台部に対して接離可能とすることを特徴とする請求項2又は3記載の  
磁性粒子攪拌装置。
- 20 5. 上記上部磁界発生部及び下部磁界発生部は、上記架台部の面内方向に並  
列させた複数の電磁誘導装置をそれぞれ備え、これら複数の電磁誘導装置を並列  
方向に周期的にオン・オフ制御することを特徴とする請求項1記載の磁性粒子攪  
拌装置。
6. 上記上部磁界発生部と上記下部磁界発生部から生ずる磁界強度を制御す  
25 る制御装置を備えることを特徴とする請求項1記載の磁性粒子攪拌装置。
7. 液体及び当該液体内に加えられた磁性粒子とを有する容器に対して、当  
該容器の上方及び下方から位相の異なる周期で磁界をそれぞれ印加することを特  
徴とする液体攪拌方法。
8. 上記容器に対して上方から印加する磁界を発生させる上部磁界発生部と、



上記容器に対して下方から印加する磁界を発生させる下部磁界発生部との間に上記容器を取り付け、

上記上部磁界発生部及び上記下部磁界発生部の間で上記容器の面内方向に、上記容器又は上記上部磁界発生部及び上記下部磁界発生部を往復運動させることを

5 特徴とする請求項 7 記載の液体攪拌方法。

9. 上記容器に対して上方から印加する磁界を発生させる上部磁界発生部と、上記容器に対して下方から印加する磁界を発生させる下部磁界発生部との間に上記容器を取り付け、

10 上記上部磁界発生部から上記容器の面内方向に強度の異なる磁界を周期的に発生させるとともに、上記下部磁界発生部から上記容器の面内方向に強度の異なる磁界を周期的に発生させることを特徴とする請求項 7 記載の液体攪拌装置。

図1

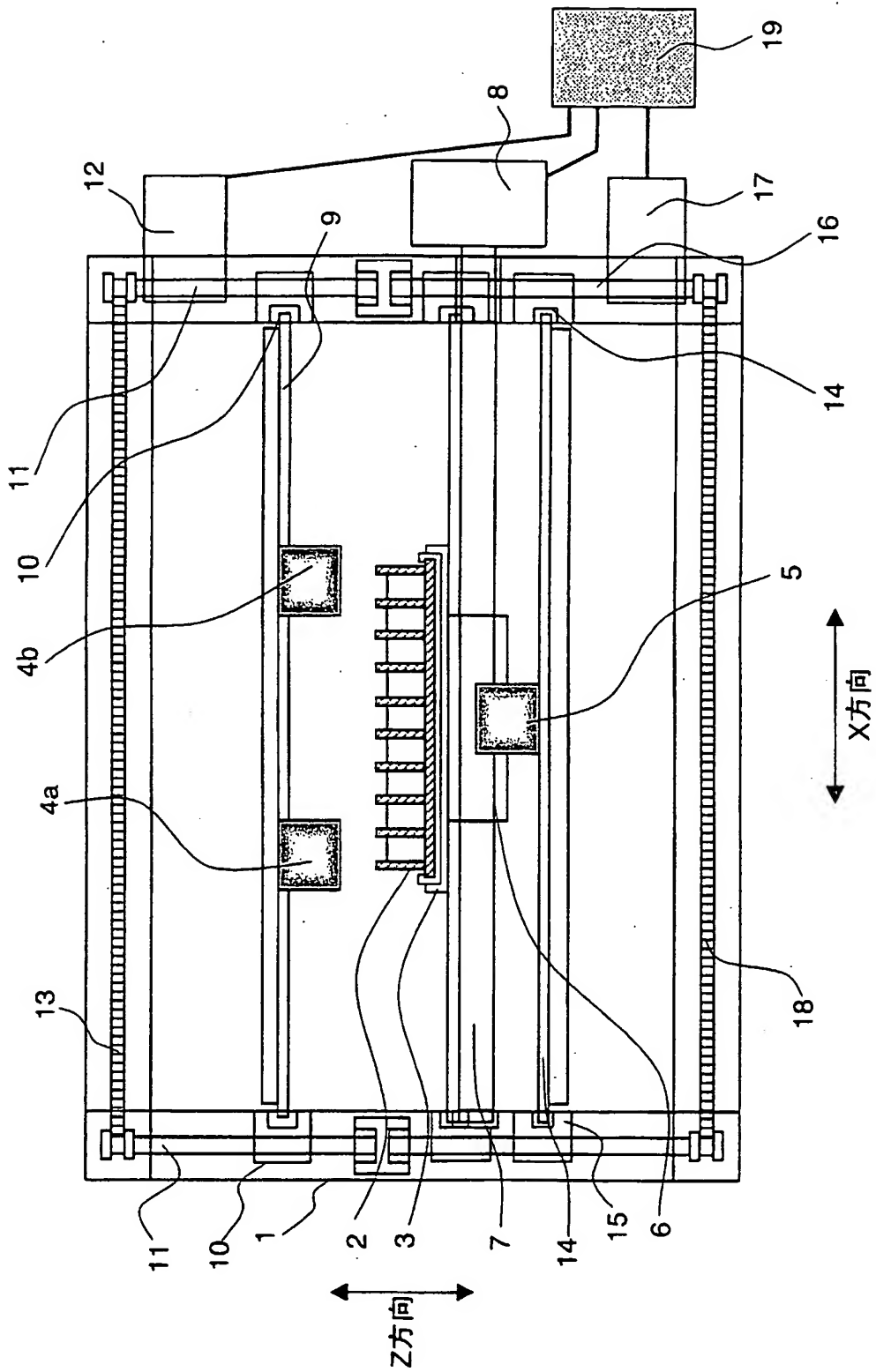


図2

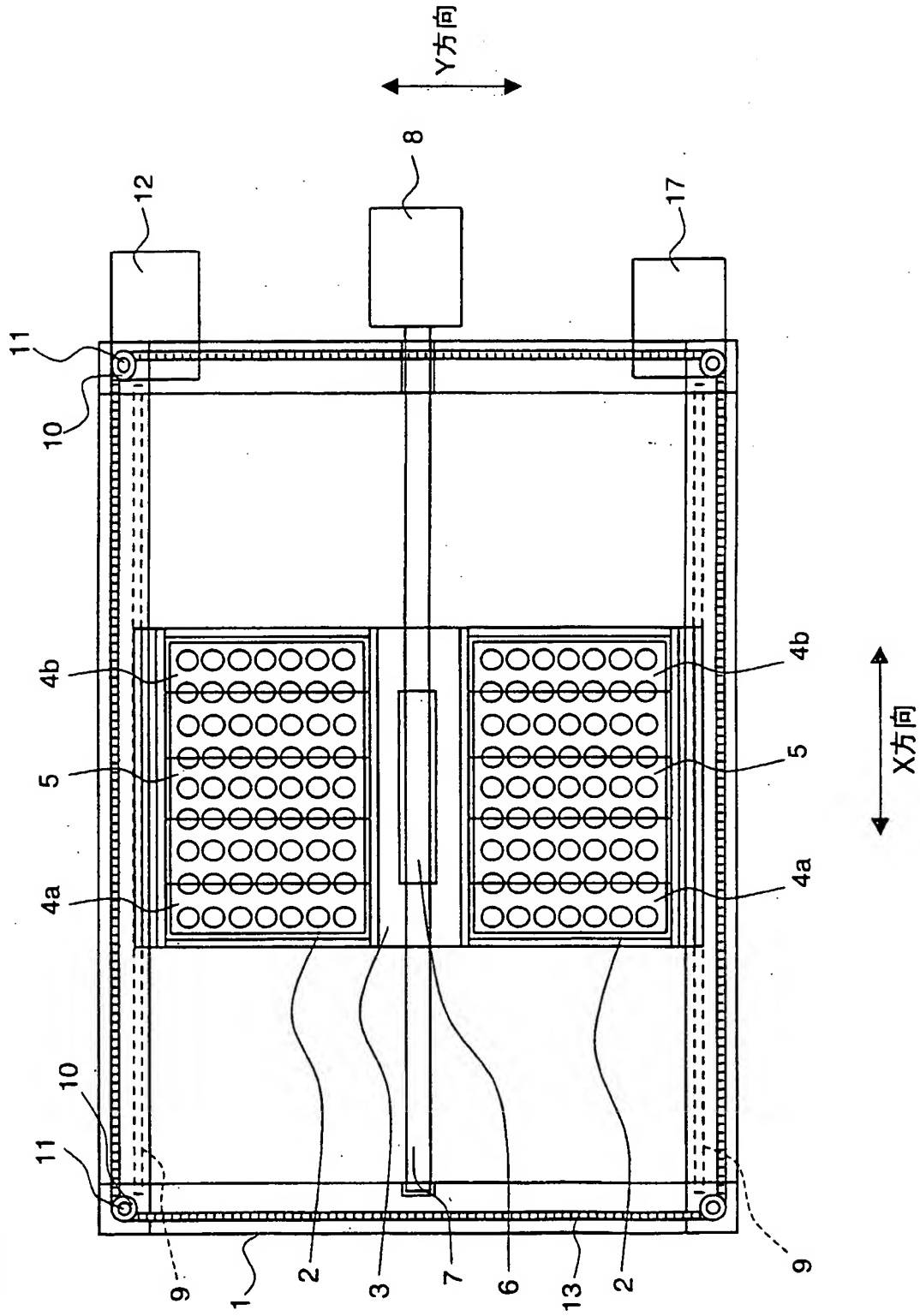


図3

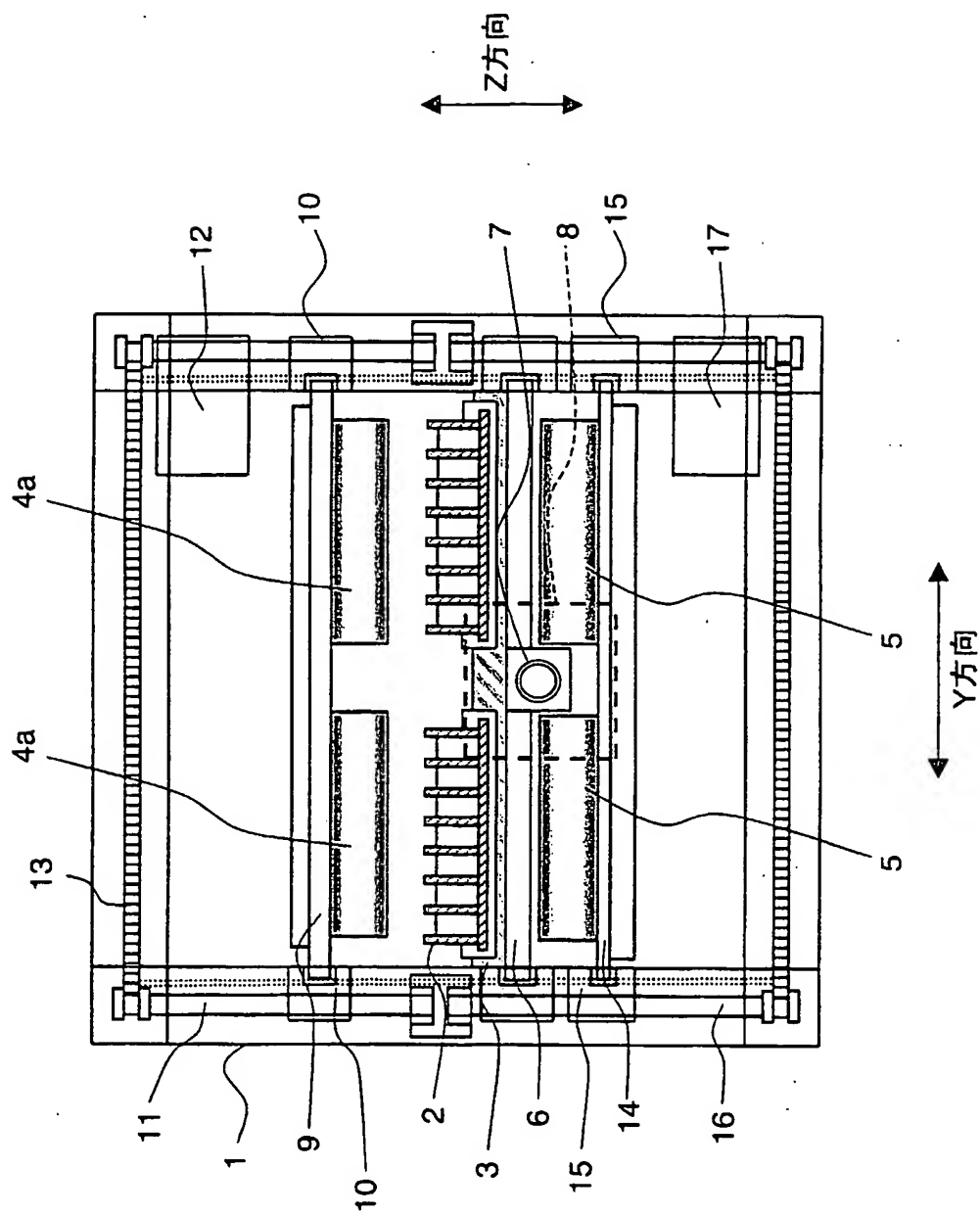


図4

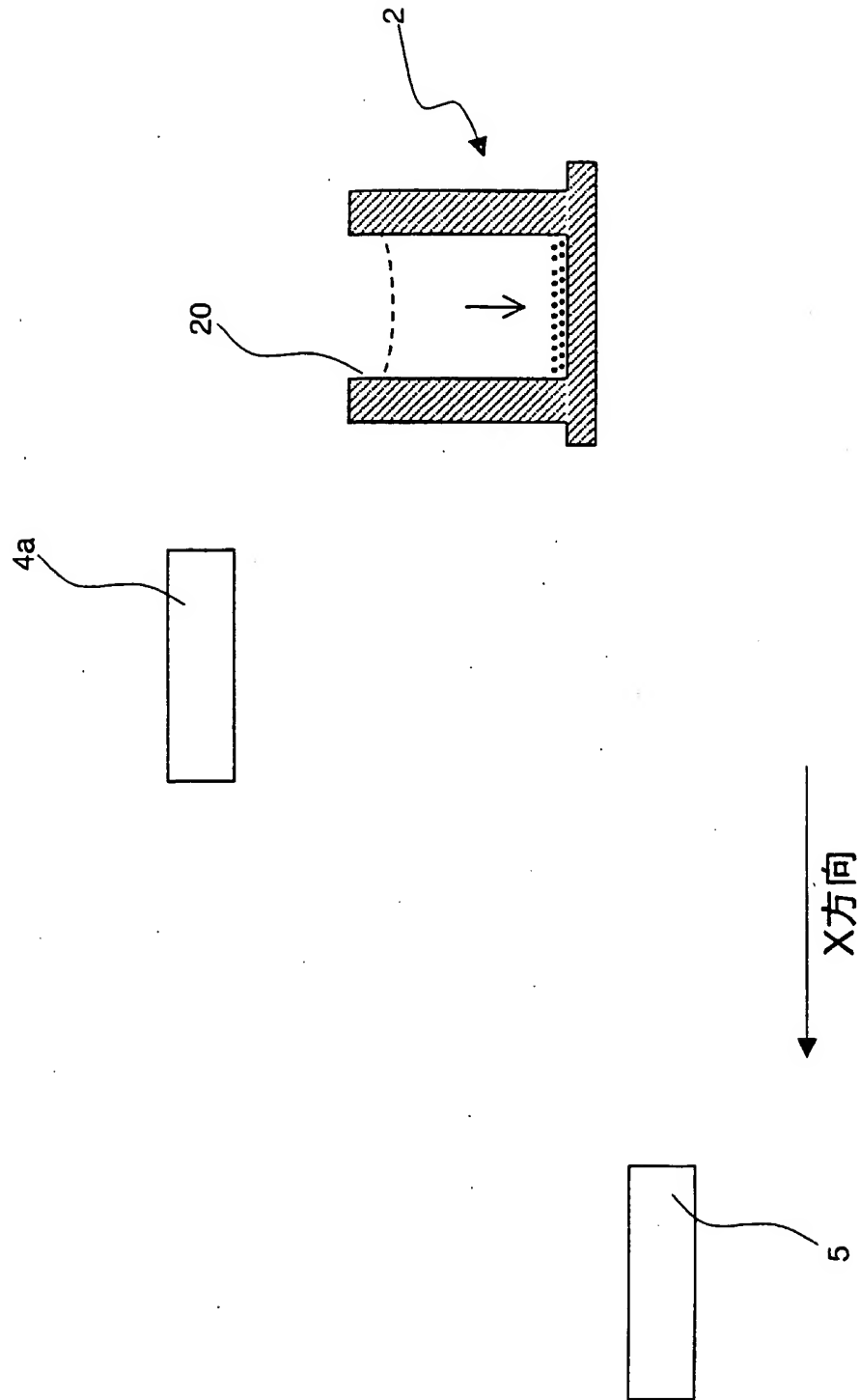


図5

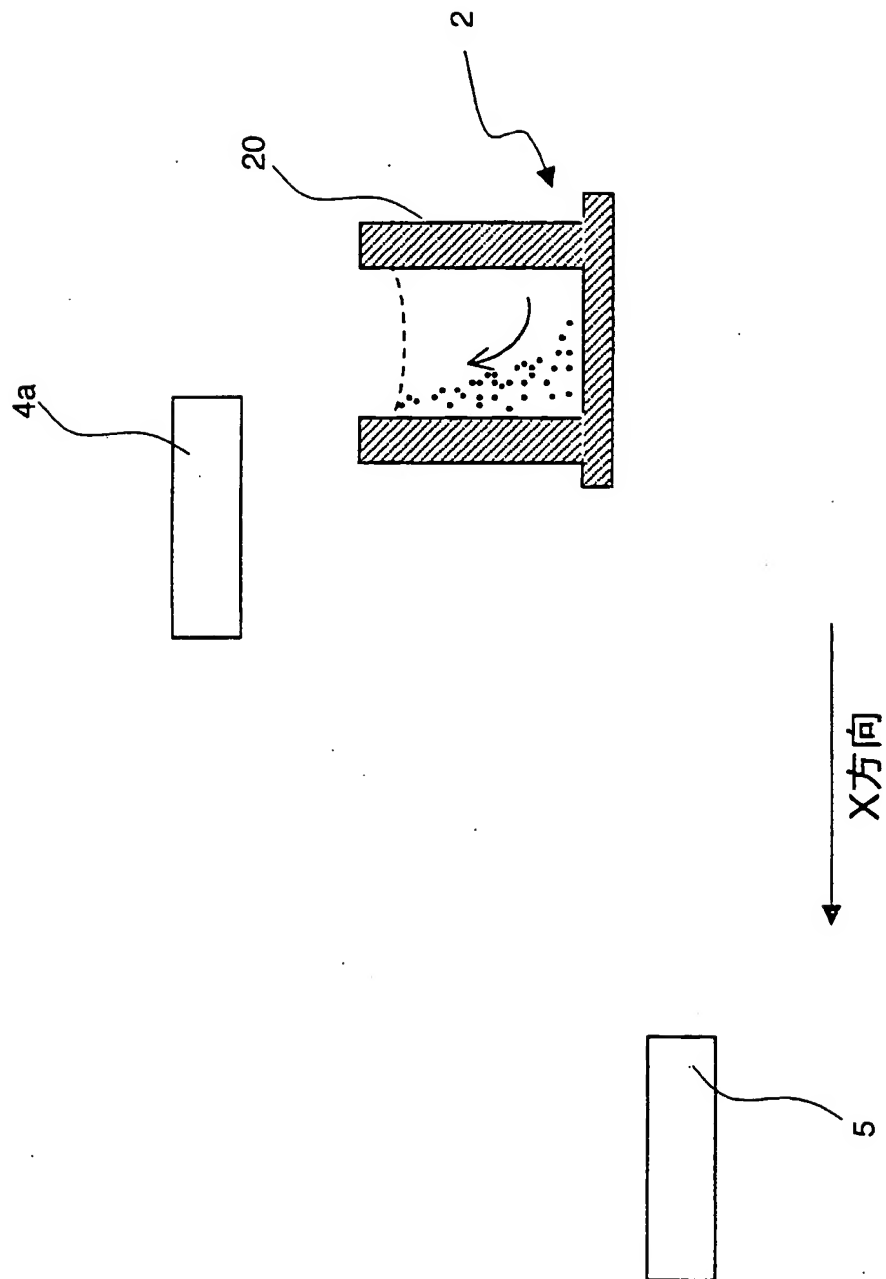


図6

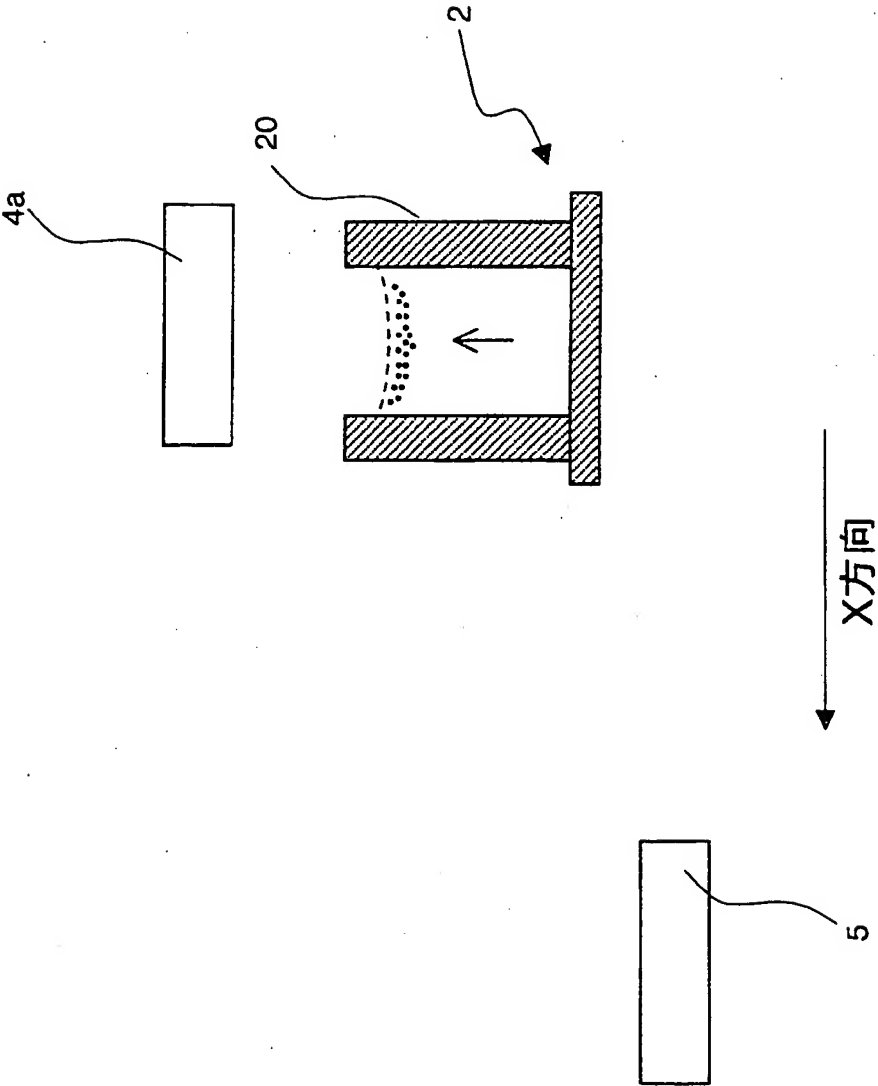


図7

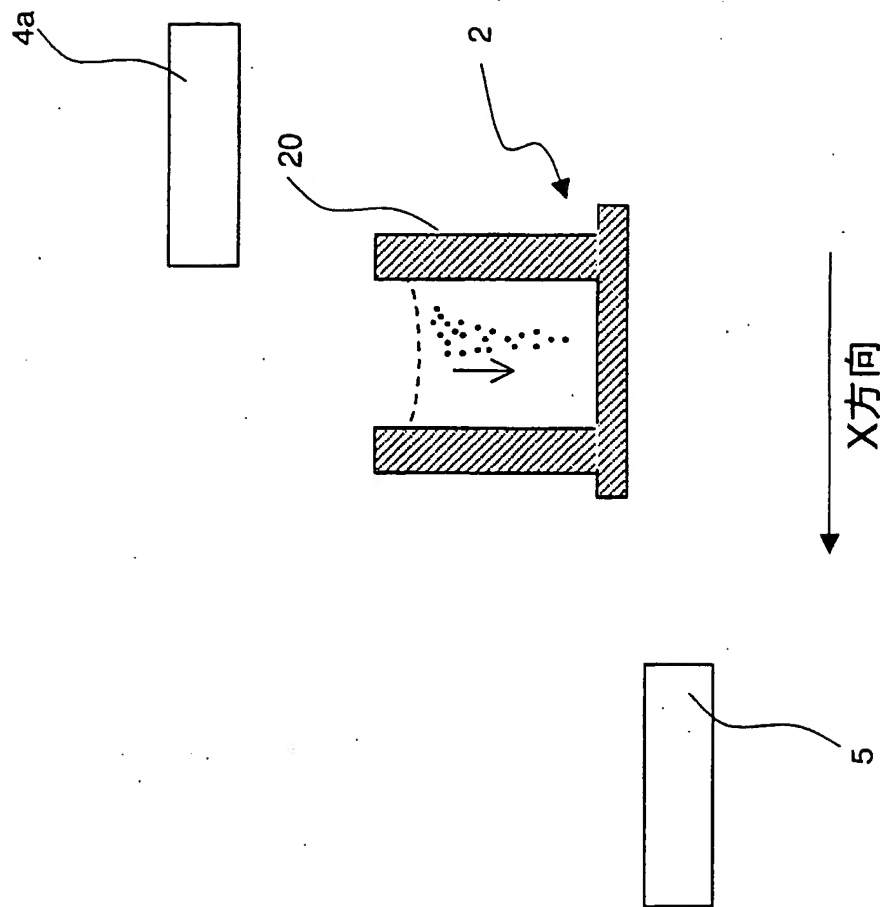




図8

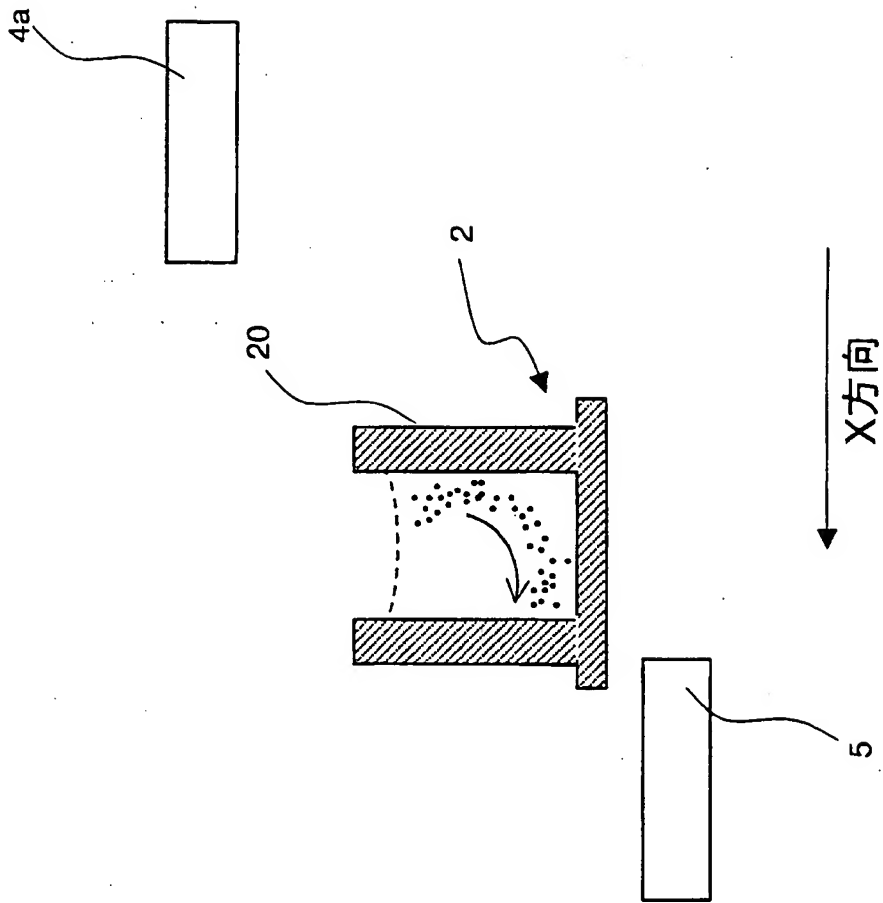


図9

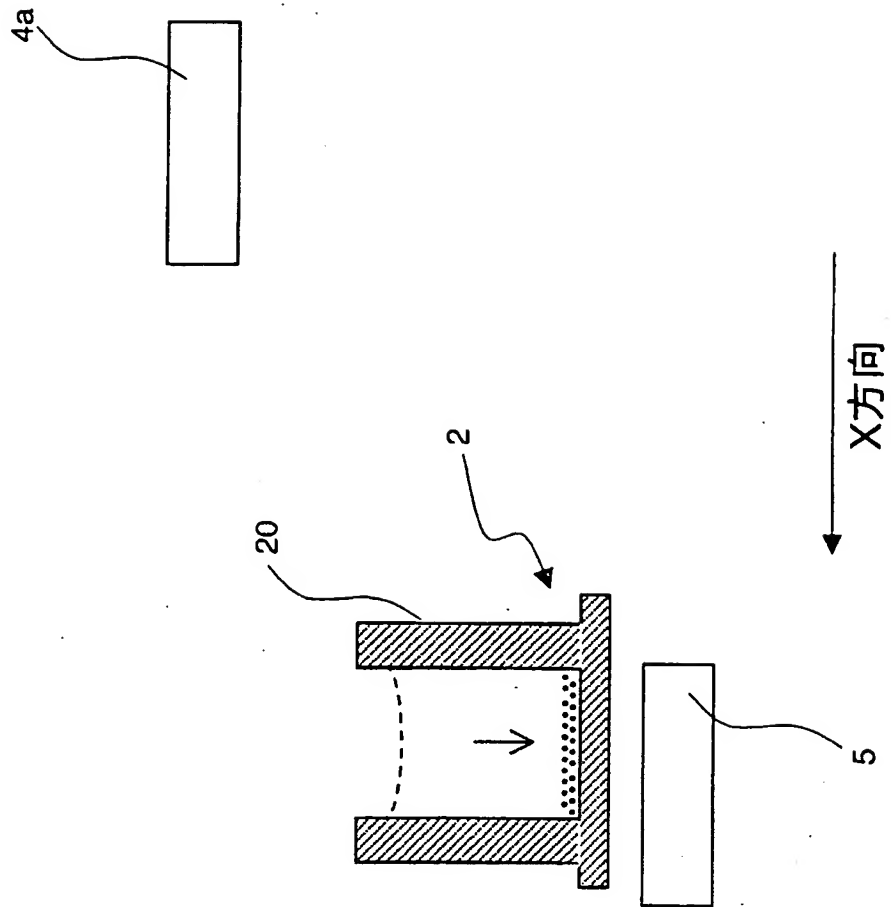


図10

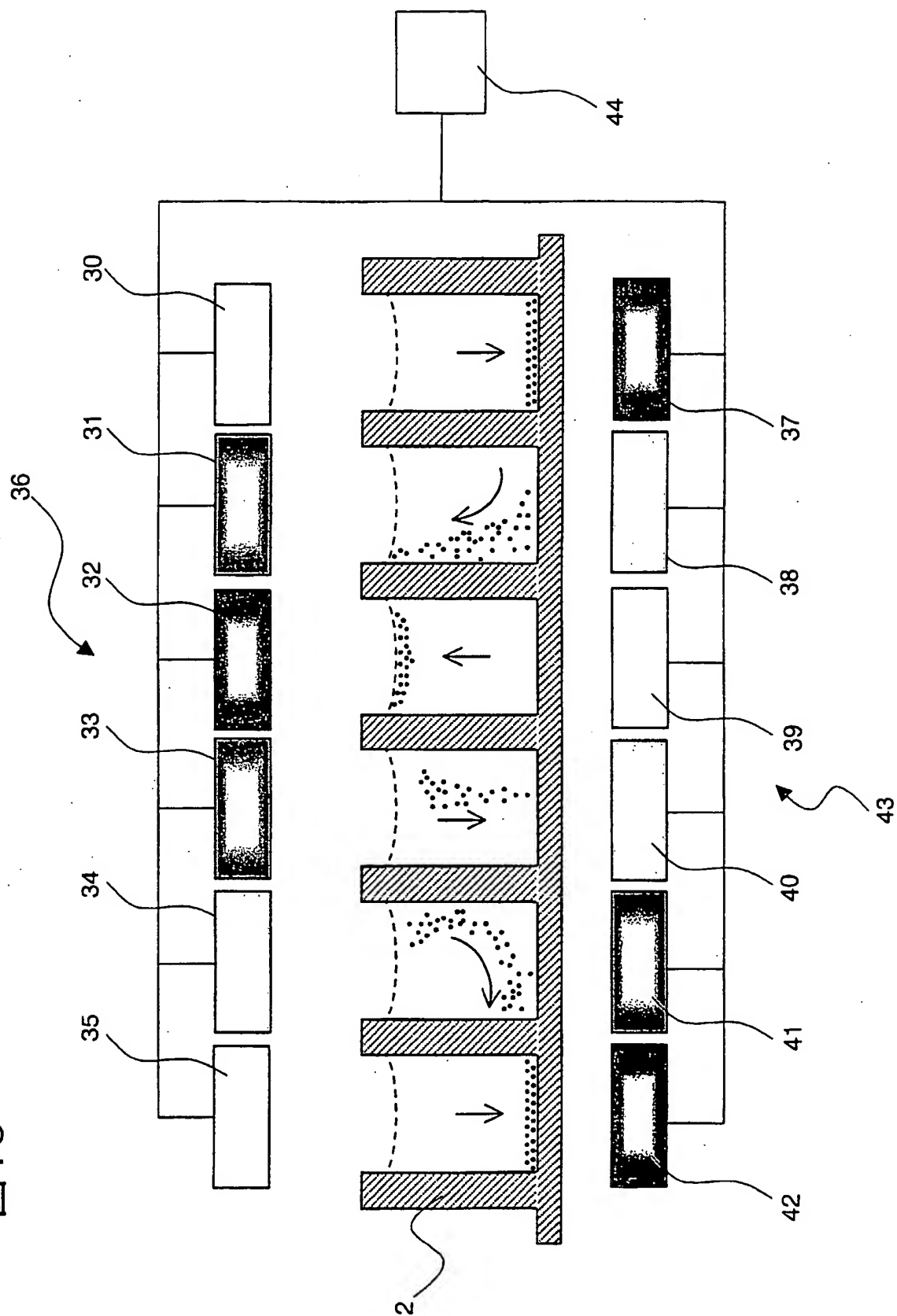


図 11

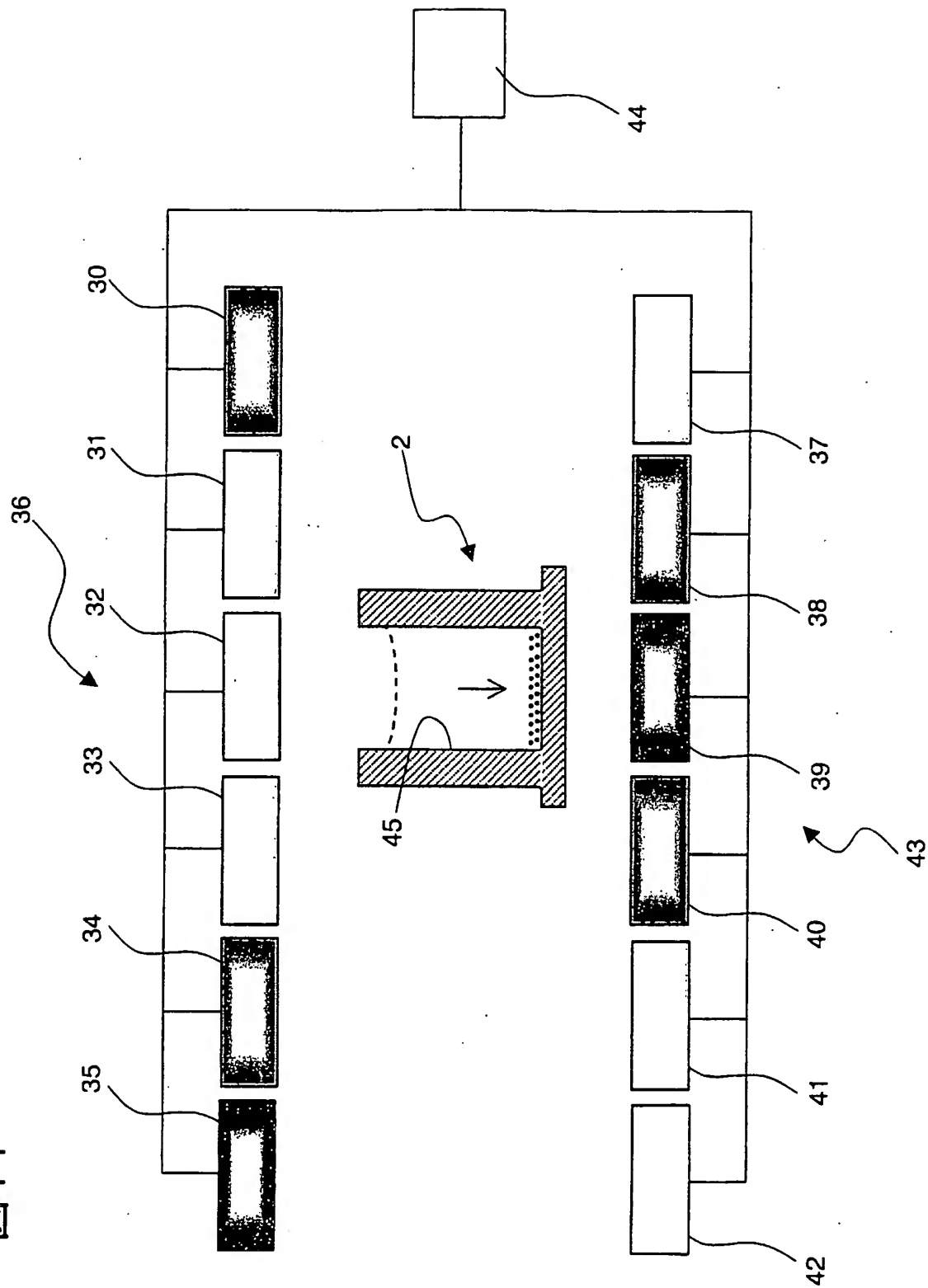


図12

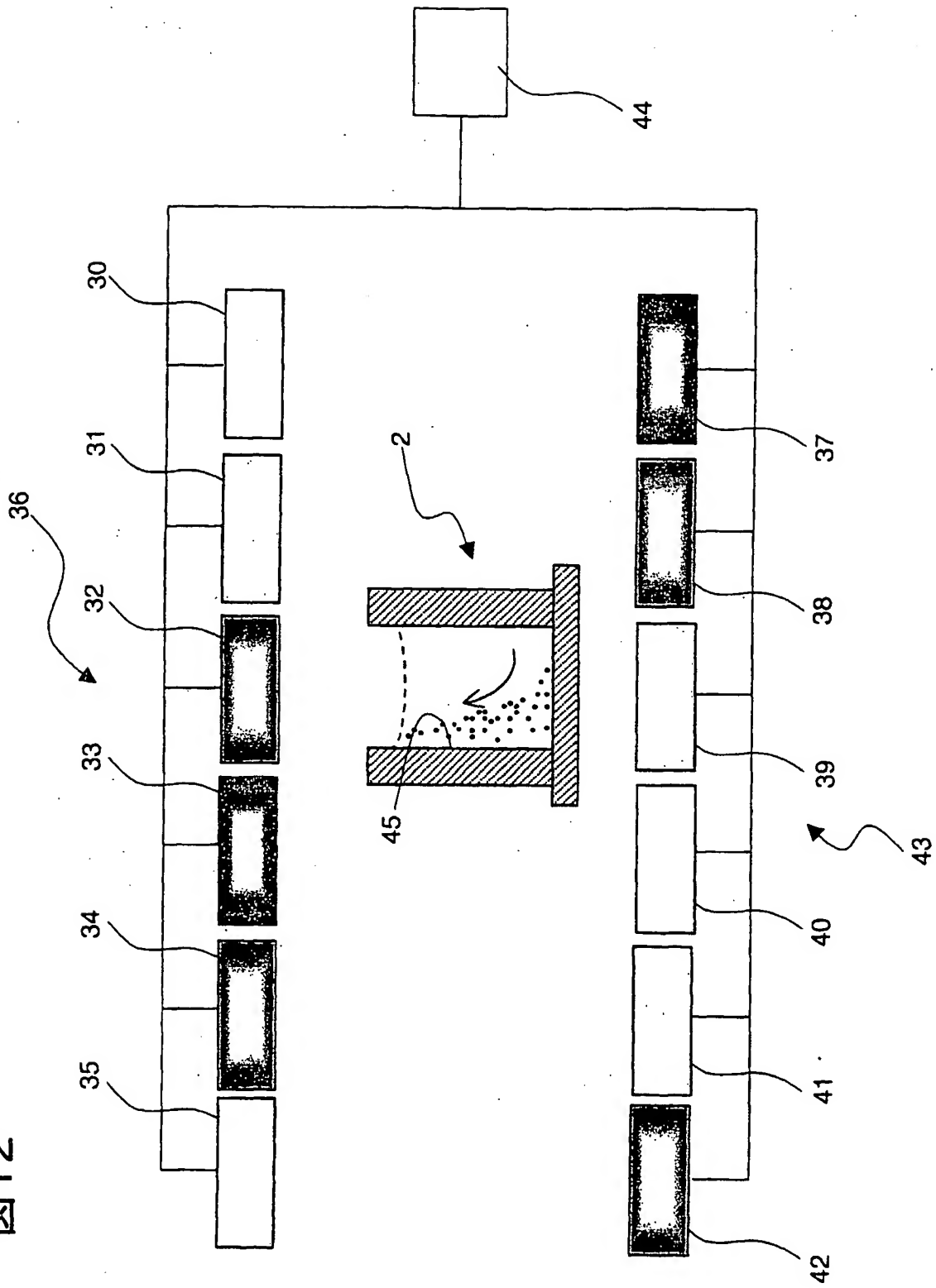


図13

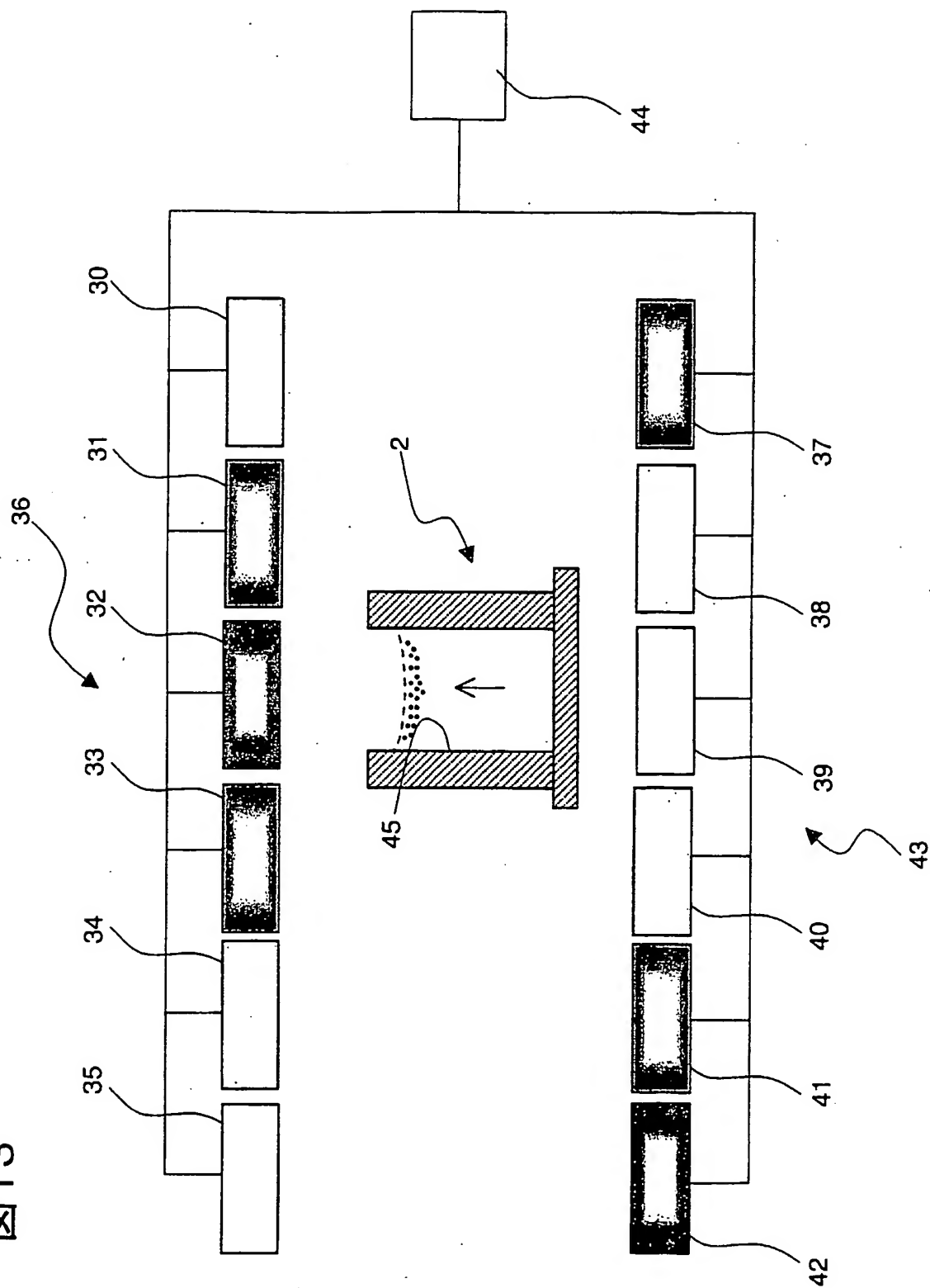


図 14

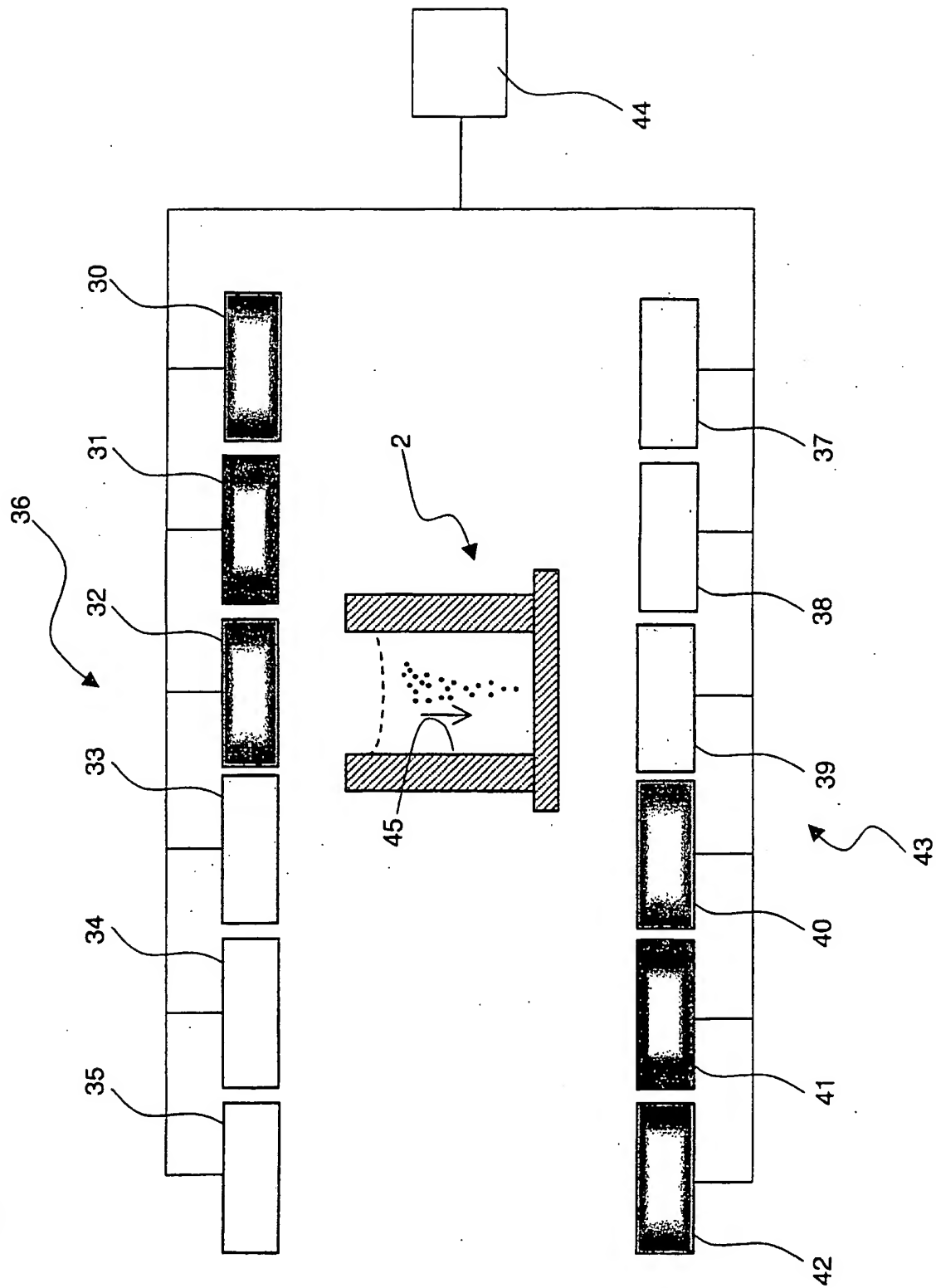


図15

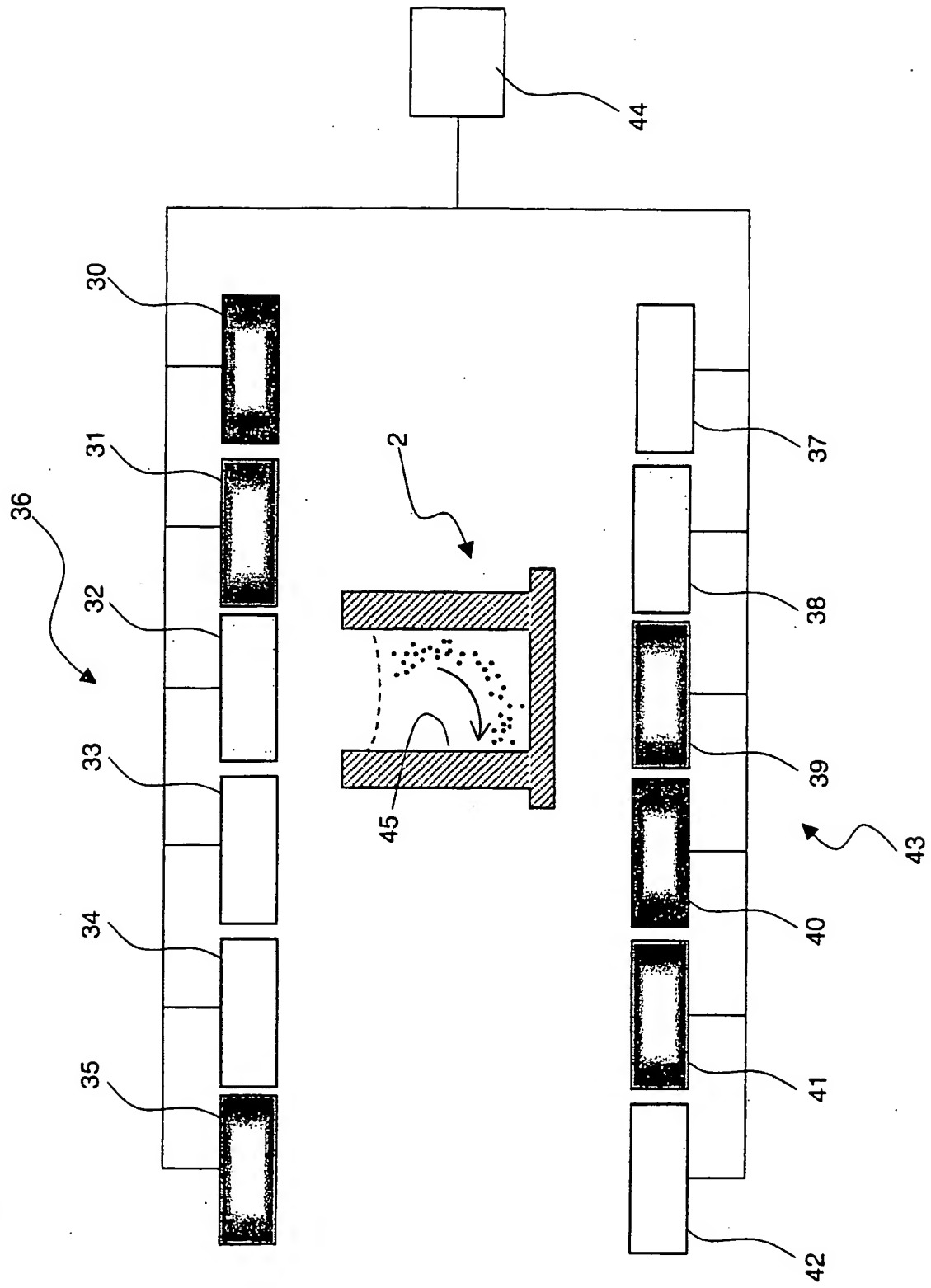




図16

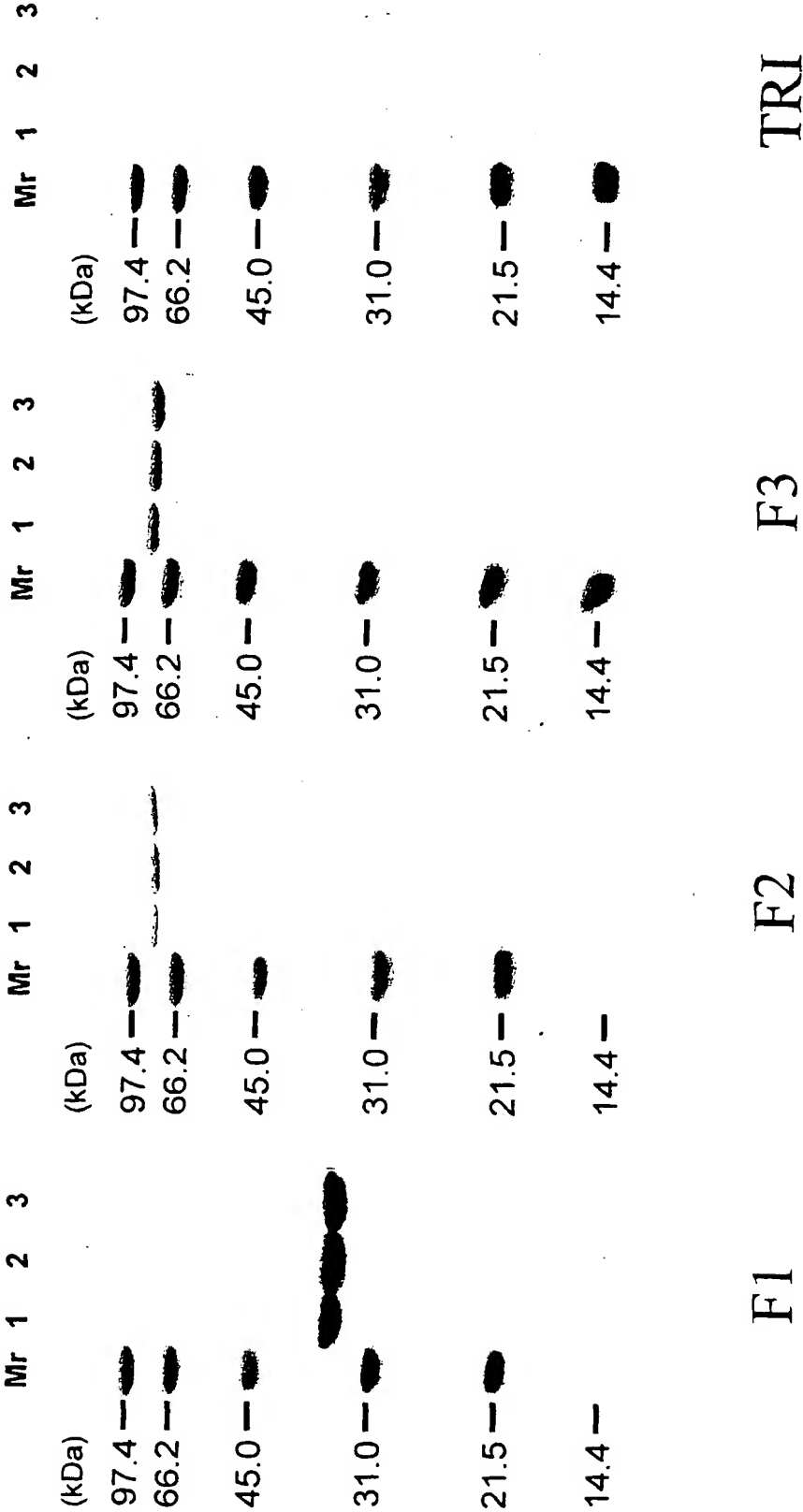
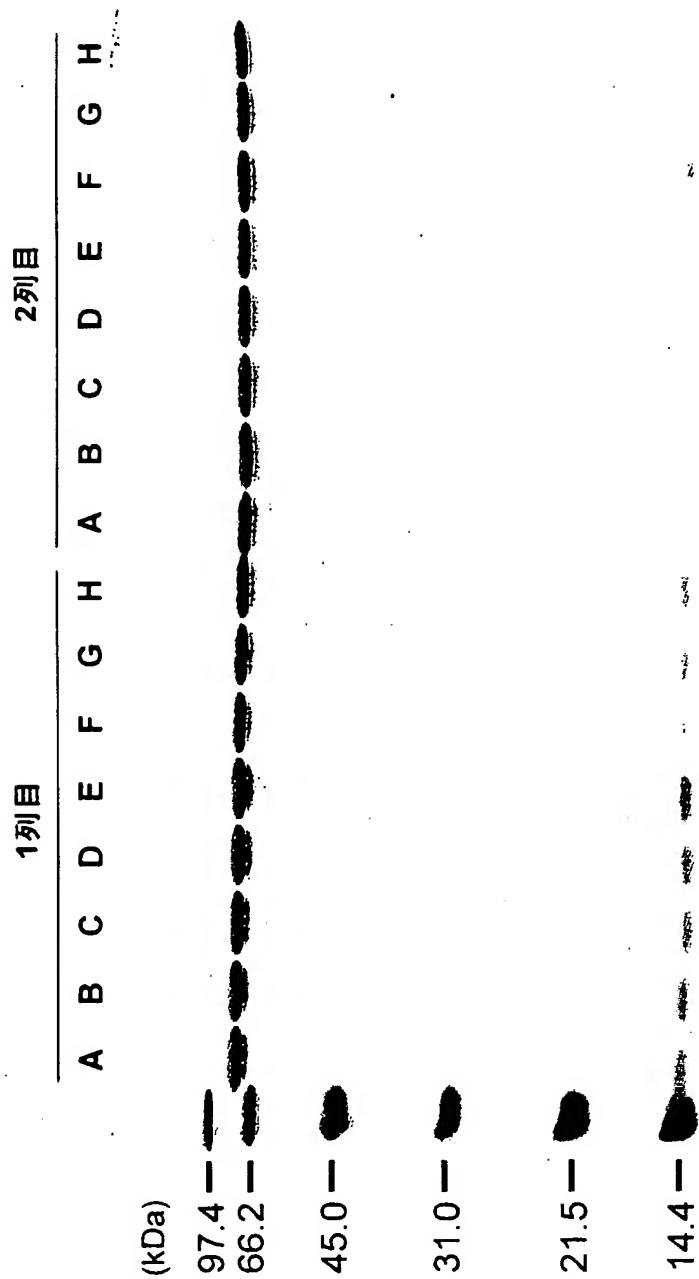


図17



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/14515

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>7</sup> B01F13/08, C12M1/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>7</sup> B01F13/08, C12M1/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2003	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	US 4321958 A (CEM COMPAGNIE ELECTRO-MECANIQUE), 30 March, 1982 (30.03.82), Full text & JP 55-103263 A & FR 2448247 A1 & ES 488062 A1 & EP 0014636 A1 & DE 3060025 D1 & CA 1138543 A1 & BR 8000516 A	7 1-6, 8-10
X A	JP 2000-254472 A (Toshiba Corp.), 19 September, 2000 (19.09.00), Claims (Family: none)	7 1-6, 8-10
A	JP 58-156331 A (Fuji Electric Co., Ltd.), 17 September, 1983 (17.09.83), Full text & JP 1-14804 B2	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
08 January, 2004 (08.01.04)

Date of mailing of the international search report  
27 January, 2004 (27.01.04)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/14515

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 10-229008 A (Kozo AOYAMA), 25 August, 1998 (25.08.98), Full text & JP 2954904 B2	1-10
A	EP 1065001 A1 (PRECISION SYST SCIENCE CO. LTD.), 03 January, 2001 (03.01.01), Full text & WO 99/47267 A1	1-10
A	EP 0801977 A1 (BAYER AG.), 22 October, 1997 (22.10.97), Full text & DE 19615117 A1 & DK 801977T T3 & JP 10-33967 A & US 5911503 A	1-10
A	JP 8-322910 A (Kobe Steel, Ltd.), 10 December, 1996 (10.12.96), Full text (Family: none)	1-10
P,A	Tomohiro TANAKA et al., "Jisei Ryushi Kakuhan Sochi niyoru Kumikae Tanpakushitsu no High Through Put Seisei", Bio Industry, Vol.20, No.8, 12 August, 2003 (12.08.03), pages 37 to 43	1-10

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> B01F13/08, C12M1/02

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> B01F13/08, C12M1/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1926-1996
日本国公開実用新案公報	1971-2003
日本国登録実用新案公報	1994-2003
日本国実用新案登録公報	1996-2003

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	US 4321958 A (CEM COMPAGNIE ELECTRO-MECANIQUE) 1982.03.30 全文 & JP 55-103263 A & FR 2448247 A1 & ES 488062 A1 & EP 0014636 A1 & DE 3060025 D1 & CA 1138543 A1 & BR 8000516 A	7 1-6, 8-10
X A	JP 2000-254472 A (株式会社東芝) 2000.09.19 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	7 1-6, 8-10
A	JP 58-156331 A (富士電機製造株式会社) 1983.09.17 全文 & JP 1-14804 B2	1-10

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

08.01.04

国際調査報告の発送日

27.1.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中村 泰三

4Q

9040

電話番号 03-3581-1101 内線 3466

C (続き). 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 10-229008 A (青山耕三) 1998.08.25 全文 & JP 2954904 B2	1-10
A	EP 1065001 A1 (PRECISION SYST SCIENCE CO. LTD.) 2001.01.03 全文 & WO 99/47267 A1	1-10
A	EP 0801977 A1 (BAYER AG.) 1997.10.22 全文 & DE 19615117 A1 & DK 801977T T3 & JP 10-33967 A & US 5911503 A	1-10
A	JP 8-322910 A (株式会社神戸製鋼所) 1996.12.10 全文 (ファミリーなし)	1-10
PA	田中具博 外2名、磁性粒子攪はん装置による組換えタンパク質のハイスループット精製、Bio Industry、第20巻、第8号、No. 8, 2003年8月12日、第37-43頁	1-10